Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. Henschler

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE METABOLISIERUNG VON HALOTHAN IN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Ingrid Rösch

aus Schweinfurt

Würzburg, den 2.3.1981

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. Henschler

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE METABOLISIERUNG VON HALOTHAN IN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENLEBER

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Ingrid Rösch

aus Schweinfurt

Würzburg, den 2.3.1981

Referent:	Prof. Dr. Henschler
Korreferent:	Privatdoz. Dr. Metzler
Dekan:	Prof. Dr. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 30.6.1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
Chemische und physikalische Eigenschaften des Halothan	1
LITERATURÜBERSICHT	
I. Die Metabolisierung von Halothan	3
II. Die Toxizität des Halothan	8
III. Das Halothan-Problem für den Anaesthesisten	12
METHODIK	
I. Leberpräparation	18
II. Perfusionsmedium	21
III. Leberfunktionsprüfungen	22
IV. Beschreibung des Versuchsaufbaus	24
1) Verdampfungsanlage	24
a) Eichung	26
2) Künstlicher Kreislauf	27
V. Analytik	28
1) Probenaufarbeitung	28
2) Gaschromatographische Bestimmung	30
3) Berechnung der Umsatzraten	33
ERGEBNISSE	
I. Prähepatische Halothankonzentration	36
II. Metabolisierter Anteil	37
III. Halothan-Aufnahmeraten	40
IV. Lineweaver-Burke-Diagramm	41

V. TFA - Bildung 43

a) In der Leber 43

b) Bestimmung der Rest-TFA im Lebergewebe 46

c) TFA-Bildung in der Galle 47

VI. Abgedampfte Halothanmenge 50

DISKUSSION 51

ZUSAMMENFASSUNG 56

LITERATURVERZEICHNIS 58

EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einem der am häufigsten verwendeten Anaesthetika der heutigen Anaesthesie, dem Halothan. Es wurde 1951 von C.W. Suckling synthetisiert und 1956 in England erstmals klinisch angewendet. Nach Überwindung der anfänglichen Schwierigkeit, geeignete Verdampfersysteme zu entwickeln, genoß Halothan schnelle und weltweite Annahme und Benutzung. Es eignet sich besonders gut als Narkosemittel, da es durch eine relativ rasche An- und Abflutung gekennzeichnet ist. Die geringe Löslichkeit im Blut ermöglicht eine rasche Abgabe an das mehr lipoidhaltige Körpergewebe. Die in der Anaesthesie angewandten Konzentrationen wirken nicht maßgeblich reizend auf die Atemwege, sie hemmen den Laryngo- und den Bronchospasmus und erleichtern so die Intubation.

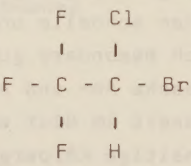
Dennoch wurde dem neuen Mittel auch Kritik entgegengebracht. Nach der anfänglichen Euphorie häuften sich im Laufe der Zeit Meldungen über Leberschäden bei Patienten, die eine Halothannarkose erhalten hatten. Erst relativ spät begann man sich auch Gedanken zu machen über die Gefährdung des Anaesthesie- und Operationssaalpersonals durch die chronische Inhalation von überschüssigen Narkosegasen in niedrigen Konzentrationen.

In der vorliegenden Arbeit soll der Frage nachgegangen werden, inwieweit die Metabolisierung von Halothan in der Leber von der angebotenen Konzentration abhängig ist, d.h. ob bei dem Operationssaalpersonal und den Anaesthesisten ebensoviel Halothan umgesetzt wird, wie bei einem narkotisierten Patienten. Wir verwendeten hierfür das Modell der isoliert perfundierten Rattenleber.

Chemische und physikalische Eigenschaften des Halothan

Halothan, 2-Brom-2-Chlor-1,1,1 - Trifluoräthan, ist eine schwere, farblose Flüssigkeit mit einem angenehmen charakteristischen Geruch.

Es besitzt die folgende Strukturformel:



Die Dichte der Flüssigkeit beträgt 1.86 g/cm^3, der Siedepunkt liegt bei 50,2^o C und das Molekulargewicht liegt bei 197,4. Halothan zeichnet sich durch chemische Stabilität aus, zeigt jedoch unter Einfluß von Licht und Luft eine Zersetzung von 1 : 50.000 in einem Zeitraum von 3 Wochen. Es löst sich im Wasser zu 0.3445 % und hat bei Raumtemperatur einen Dampfdruck von 243 mm Hg. Wegen des geringen Blut - Gas - Verteilungskoeffizienten von 2.1 erfolgt das Erwachen aus der Narkose sehr schnell. Halothan ist nicht explosibel und nahezu unbrennbar.

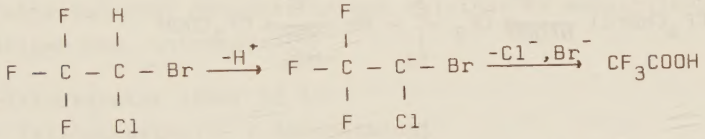
LITERATURÜBERSICHT

I. DIE METABOLISIERUNG VON HALOTHAN

RAVENTOS und DUCAN (1959) nahmen ursprünglich an, daß Halothan unverändert über die Ausatemluft abgegeben wird. STIER (1965) erbrachte den ersten Beweis dafür, daß aus Halothan in vivo Trifluoressigsäure entsteht.

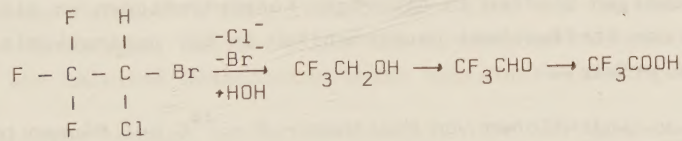
Folgende Abbauwege werden diskutiert:

1.

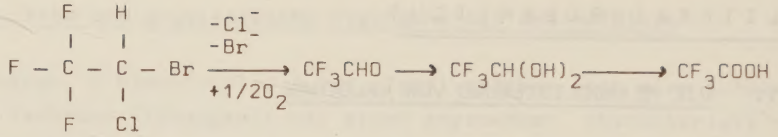


Nach STIER (1965) verursacht die Wegnahme eines Protons vorübergehend eine labile Zwischenstufe und diese kann sofort unter Abspaltung von Cl^- und Br^- eine Hydroxylgruppe und ein Sauerstoffradikal binden.

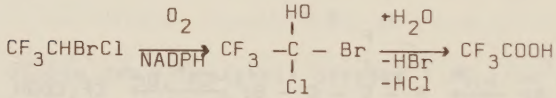
2.



VAN DYKE und CHENOWETH (1965) nehmen als Zwischenstufe das Trifluoräthanol an, welches zum Trifluoracetaldehyd und weiter durch die Xanthinoxydase zu Trifluoressigsäure oxydiert wird.

3. 

Eine dritte Möglichkeit ist die direkte Bildung von Trifluoracetaldehyd, der nach Hydratisierung in Trifluoressigsäure umgewandelt werden kann (AIRAKSINEN, 1970).

4. 

MANSUY et al. (1974) beschrieben einen weiteren Abbauweg des Halothan. Das Wasserstoffatom am C-2 kann durch Cytochrom P-450 unter aeroben Bedingungen zu einem unstabilen Zwischenprodukt, dem $CF_3CBrClOH$ hydroxyliert werden, welches anschließend zu Trifluoressigsäure hydrolysiert wird.

Die gute Lipoidlöslichkeit des Halothan garantiert auch nach Beendigung der Zufuhr für eine gewisse Zeit ein stetes Angebot an flüchtigen Stoffen in niedrigen Konzentrationen an die Leber, so daß der Stoffwechsel hauptsächlich in der postnarkotischen Periode erfolgt.

Nach i.v.-Injektionen von Halothan - 2 - ^{14}C bei Mäusen beobachteten COHEN et al. 1969 eine Aufhäufung markierter nichtflüchtiger Metaboliten in den verschiedenen Organen mit dem höchsten Gehalt in der Leber. Diese Stoffe verbleiben mindestens 12 Tage im Körper, jedoch in fallenden Aktivitäten. Wiederholte Injektionen von Halothan in wöchentlichen Intervallen über fünf Wochen ergaben einen steilen Radioaktivitätsanstieg in der Leber, was zeigt, daß die Halothan-Metaboliten im Körper akkummulieren. Diese Feststellung trifft streng genommen nur für die Maus zu, an der sie experimentell beobachtet wurde. Die Maus scheidet Trifluoracetat nämlich nur in konjungierter Form aus. Vom Menschen wird diese

Verbindung jedoch in freier Form mit dem Harn ausgeschieden, so daß aus diesen Gründen der Verdacht einer Akkummulation nicht ohne weiteres gegeben ist (REHDER et al. 1967).

Halothan hemmt in anaesthetischen Konzentrationen seine eigene Dehalogenierung, sie erfolgt erst wieder, wenn die Halothan-Blutkonzentration fällt (ATALLAH et al., 1972 und 1973).

Es konnte wiederholt gezeigt werden, daß die Trifluoressigsäure in den Mengen, wie sie bei Halothangaben zugeführt werden, nicht toxisch ist (STIER, 1975 und VAN DYKE, 1975).

COHEN et al. konnten 1975 mit Hilfe von ^{14}C-markiertem Halothan bei Patienten drei Metaboliten des Halothan im menschlichen Harn bestätigen bzw. entdecken:

1. Trifluoracetat (über 90 %)
2. N- Trifluoraethyl - 2 Aminoäthanol
3. N- Acetyl - S -(2-brom-2-chlor-1, 1-difluoraethyl)-Cystein.

Die genannten Metaboliten beweisen, daß die Biotransformation von Halothan mehrere Zwischenstufen durchläuft. Von besonderem Interesse ist der Dritte der gefundenen Metaboliten, da man daraus ersieht, daß Halothan einer Defluorierung unterliegt. Diese tritt nach WIDGER et al. (1976) unter hypoxischen Bedingungen auf. Sie vermuten, daß die bei diesem reduktiven Abbauweg auftretenden Metabolite mehr lebertoxisch sind als die des oxydativen Abbauweges, basierend auf der zunehmenden kovalenten Bindung von Halothan-Metaboliten unter hypoxischen Bedingungen.

Tatsächlich konnten NASTAINCZYK et al. 1978 bei Versuchen an Lebermikrosomen und der isolierten Rattenleber nachweisen, daß ein reduktiver in vivo- Metabolismus des Halothan mit Bildung eines reaktiven Zwischenproduktes besteht, wenn die Sauerstoffkonzentration der Zelle weniger als 50 µM erreicht.

HOLADAY (1977) faßt die Biotransformation des Halothans folgendermasen zusammen: Ein Teil des aufgenommenen Halothans wird als Trifluoressigsäure, Chlorid und Bromid ausgeschieden. Ein zweiter Teil wird irreversibel an Leberproteine und -lipide gebun-

den, ohne die Zellfunktion zu stören. Unter anaeroben Bedingungen wird ein dritter Abbauweg aktiviert, wobei Fluorid frei wird und die Bindung an Phospholipide steigt. Cytochrom P 450 katalysiert den oxydativen und den reduktiven Abbauweg des Halothan (VAN DYKE et al. 1973 und 1975).

Der Ort der Umwandlung von Halothan zu Trifluoressigsäure sind die Lebermikrosomen, sie erfolgt durch das mikrosomale-mischfunktionelle Oxydase-System (KARASHIMA et al. 1977).

Sobald die Zufuhr von Halothan aufhört, geben die Organe ihr Halothan wieder an das Blut ab. Unter Normalbedingungen werden bei einer Lungenpassage ca. 26 % des Halothangehaltes im venösen Blut abgeatmet (LARSON et al. 1962).

CASCORBI et al. (1970) fanden bei Untersuchungen mit markiertem Halothan selbst einige Tage nach einer i.v.- Injektion einer subnarkotischen Dosis noch messbare Halothanmengen in der Expirationsluft. Die Halothan-Metaboliten erscheinen hauptsächlich im Urin. Der mit den Faeces und im Schweiß ausgeschiedene Teil macht kaum 1 % der Gesamtmenge aus (CASCORBI et al. 1970).

Die ersten quantitativen Metabolit-Bestimmungen wurden 1967 von REHDER et al. vorgelegt. Es wurden Trifluoressigsäure, Bromid und etwas Fluorid gefunden. Ihre Berechnung ergab, daß etwa 15 % des aufgenommenen Halothans beim Menschen metabolisiert werden. Eine andere Untersuchung an freiwilligen Personen ergab, daß zwischen 5 - 25 % einer kleinen intravenösen Dosis von ^{14}C-markiertem Halothan in Harn-Metaboliten umgewandelt werden (CASCORBI et al. 1970). CASCORBI et al. bestimmten 1971 auch die Metabolisierungsraten bei eineiigen und bei zweieiigen Zwillingen anhand der 24-Std.-Urinausscheidung. Sie injizierten ebenfalls ^{14}C - markiertes Halothan. Dabei lagen die Werte für eineiige Zwillinge zwischen 2.4 - 17.3 %, für zweieiige Zwillinge zwischen 2.9 - 70 %.

In einer Untersuchung von DALLMEIER (1977), bei der menschliche Freiwillige in einer abgeschlossenen Kammer geringen Halothan-Gas-Konzentrationen ausgesetzt waren, wurde anhand der Trifluor-

essigsäure eine Metabolisierungsrate von 50 - 60 % ermittelt.

CASCORPI et al. (1970) konnten außerdem zeigen, daß die Halothan-Blut-Konzentration und die Metabolisierungsrate umgekehrt proportional sind, d.h. je niedriger die Halothan-Blut-Konzentration, desto höher die Metabolisierungsraten und umgekehrt.

Die Metabolisierung von Halothan läßt sich durch induzierende Substanzen wie zum Beispiel Phenobarbital steigern. Nach Verabreichung von Phenobarbital an Ratten (80 mg/kg) für drei Tage und anschließender 24-stündiger Narkose mit Halothan, beobachtete CLAUBERG (1970) eine Zunahme der Bromidausscheidung um das Dreifache drei und fünf Tage später. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch andere Untersucher, die neben der Zunahme in der Trifluoressigsäurebildung auch eine Zunahme der Cytochrom P-450-Menge in den Mikrosomen bei mit Phenobarbital vorbehandelten Tieren fanden (KARASHIMA et al. 1977). Bei Untersuchungen an Zwillingspaaren wurde festgestellt, daß genetische und Umweltfaktoren einen beträchtlichen Einfluß auf die Halothan-Metabolisierung ausüben, wobei jedoch der Erblichkeitsfaktor eine größere Rolle zu spielen scheint (CASCORBI et al. 1971). CASCORBI beschreibt 1974 folgende Faktoren, die die Halothan-Metabolisierung beeinflussen können:

- Größe des Fettdepots (Fettleibigkeit),
- Geschlecht,
- allgemeine Gesundheitszustand.

II. DIE TOXIZITÄT DES HALOTHAN

Halothan hat eine Gesamtmortalität von 1.87 %, verglichen mit der durchschnittlichen Mortalität aller Anaesthetika von 1.92 % liegt es damit nicht so schlecht (National Halothan Study 1966). AACH et al. behaupteten 1970, daß der Tod durch Leberversagen nach Halothangabe selten ist. Er tritt in weniger als 1 unter 10.000 Halothan-Verabreichungen auf. Trotz der beachtlichen Entwicklung der Anaesthesieverfahren schätzt GRAVENSTEIN 1971, daß von 1500 - 2000 anaesthesierten Patienten einer in Folge der Narkose verstirbt.

1963 wurde in den Vereinigten Staaten das "Committee on Anesthesia of the National Council" gegründet, das in einer großangelegten, retrospektiven Studie der Frage der Lebertoxizität des Halothan beim Menschen nachging. Bei 856.000 Narkosen fand sich in 82 Fällen eine massive Lebernekrose (= 1 : 10.000), wobei sich allerdings nur bei 9 Fällen (= 1 : 35.000) Halothan als mögliche Ursache herausstellte. Im Abschlußbericht wurde festgestellt, daß Halothan zwar als leberschädigendes Agens in Frage kommen könnte, die Häufigkeit der beobachteten Nebenwirkungen war jedoch statistisch nicht signifikant. Selbst eine Verdopplung der Häufigkeit hätte noch immer dem Zufall zugeschrieben werden können.

SIMPSON et al. (1971) nehmen an, daß die Mehrheit der massiven Lebernekrosen wohl anderen Ursachen als dem Halothan zugesprochen werden müssen. SIMPSONs 4 Theorien, wie Halothan toxisch wirken könnte, seien im folgenden kurz dargelegt:

(1) Toxizität des gesamten Moleküls

(2) Toxizität durch Metaboliten

(3) Sichtbarwerden einer latenten Virushepatitis unter Halothan-Applikation

(4) allergisch - hyperergische Reaktion gegenüber Halothan

CLAUBERG beschreibt 1970 die typischen Merkmale der Lebertoxizi-

tät des Halothans folgendermaßen:

(1) Nur ein kleiner Prozentsatz der Behandelten wird betroffen.

(2) Weder das Auftreten noch das Ausmaß der Schädigung kann mit der Dosis in Zusammenhang gebracht werden.

(3) Uneinheitlichkeit des morphologischen Bildes.

(4) Die Zeitspanne zwischen Exposition und dem Auftreten der Erscheinungen ist höchst unterschiedlich.

(5) Überempfindlichkeitssymptome wie Fieber, Hautausschlag, Gelenkschmerzen und Eosinophilie gehen voraus.

RITTMEYER und SCHILLING ließen 1966 bei Kaninchen ein Halothan-Gasgemisch auf die Serosa der Darmabschnitte, die ihr Blut an die Pfortader abführen, einwirken. Dabei konnten sie nach zweimaliger Perfusion mit Halothan licht- und elektronenmikroskopisch keine Leberschädigung nachweisen. Auch bei Tieren mit vorgeschädigter Leber wurde keine dem Halothan zuzurechnende Toxizität festgestellt.

Trotzdem wurden im Laufe der Zeit immer wieder Leberschäden nach Halothan-Narkosen bekannt. SHARPSTONE et al. berichteten 1971 von zwei Krankenhäusern, in denen während der letzten vier Jahre 11 Patienten mit einer akuten Hepatitis nach mehrmaligen Halothan-Narkosen beobachtet worden waren. Sechs von ihnen hatten massive Lebernekrosen und verstarben. Sie kommen zu dem Schluß, daß es eine Halothan-Hepatitis gibt und daß ihre Häufigkeit höher liegt als allgemein angenommen. Sie warnen auch vor einer mehrmaligen Halothan-Narkose innerhalb von kurzen Zeitabständen ohne eine sorgfältige Untersuchung vorheriger postoperativer Verläufe.

MORLEY (1974) beschreibt die Kennzeichen einer Halothan-Hepatitis folgendermaßen:

(1) Eosinophilie

(2) Fieber

(3) Antimitochondriale Antikörper

(4) Wiederholte Halothan-Gaben in der Vorgeschichte

(5) Ausmaß unabhängig von der Halothan-Dosis

Ob Halothan beim Vorliegen eines gesteigerten Arzneimittelumsatzes, z.B. bei Enzyminduktion durch Phenobarbital, eine Leberschädigung hervorrufen kann, wird in der Literatur anhand von Tieruntersuchungen unterschiedlich beurteilt. Während CLAUBERG (1970) keine Leberschädigung durch Halothan bei induzierten Ratten fand, häuften sich in den darauffolgenden Jahren unter Zugrundelegung des gleichen Versuchsmodells die Angaben von massiven, über die ganze Leber verstreuten Nekrosen nach einer einmaligen Halothan-Applikation (REYNOLDS et al. 1974). Bei Untersuchungen an Ratten, die über 4 Wochen Phenobarbital im Trinkwasser erhielten, konnte bei dem Kollektiv mit anschließender 8-stündiger Halothan-Applikation von 0.6 Vol.-% zwar ein leichter, wenn auch signifikanter Anstieg der Transaminasen im Plasma beobachtet werden (RIETBROCK 1975). Bei einer anderen Untersuchung stiegen zwei Stunden nach der 5-stündigen Narkose von Ratten mit 0.85 Vol.-% die Serumtransaminasen SGOT und SGPT über das Normale und man sah eine Schädigung der centrolobulären, parenchymalen Leberzellen bei mit Aroclor 1254, einem Enzyminduktor, vorbehandelten Tieren. Die Schädigung betraf in erster Linie das endoplasmatische Retikulum (REYNOLDS et al. 1977). RAO vermutete 1977 eine Korrelation zwischen der kovalenten Bindung von Halothan-Metaboliten an Leberproteine und der Halothan-induzierten Lebernekrose.

Zwei Entdeckungen der letzten Jahre geben der Diskussion über die Leberverträglichkeit von Halothan neue Impulse:

1. Das Auffinden von Halothan-Metaboliten, die an Fragmente von Makromolekülen der Leber chemisch gebunden sind und

2. die Abhängigkeit der Reaktivität der Metaboliten vom Redoxstatus der Leber (FISCHER et al. 1977).

Das reduzierte, debromierte Derivat des Halothan, das 1,1,1 -

Trifluor - 2 - chloräthan wurde in einer Versuchsserie von BROWN et al. (1977) synthetisiert und an der Ratte auf Lebertoxizität getestet. Kleine Mengen dieser Substanz wurden in die Pfortader von Ratten injiziert und verursachten Lebernekrosen.

In einer neueren Untersuchung von PRATILAS et al. (1978) wurden zwei Patientenkollektive während der Narkose mit unterschiedlichen O_2 - Spannungen beatmet. Der eine Teil der Patienten erhielt 1 at 30 % O_2, der andere Teil 2 - 3 at 97 - 98 % O_2 in der Einatemluft. Dabei trat bei der Gruppe mit niedrigem Sauerstoffdruck eine signifikante Erhöhung der SGPT auf. Sie ziehen daraus den Schluß, daß eine erhöhte Sauerstoffspannung die Leber vor möglichen schädlichen Wirkungen des Halothans oder seiner Metabolite schützt.

Vielfach wurde in der Literatur auch versucht, die Leberschädigung durch Halothan als ein immunologisches Geschehen zu erklären. IMMAN et al. stellten 1974 in einer Studie fest, daß das Intervall zwischen der letzten einer Reihe von Halothan-Narkosen und dem Auftreten der Gelbsucht deutlich kürzer ist, als das entsprechende Intervall nach einmaliger Narkose. Sie vermuten daher, daß bei Patienten, die schon früher dieser Substanz ausgesetzt waren, eine Art von Überempfindlichkeitsreaktion stattfindet. Auch bei BERTHELOT (1973) ist die Leberschädigung des Halothan durch eine Überempflichkeitsreaktion bedingt, da sie dosisunabhängig ist, sie meistens nach mehrmaligem Kontakt mit dem Stoff auftritt und häufig mit einer Eosinophilie vergesellschaftet ist. Eine mögliche Hypothese ist, daß bei einzelnen, vielleicht genetisch prädisponierten Individuen ein Stoffwechselprodukt des Halothan durch kovalente Bindung an ein Protein ein Antigen bildet, das zu einer Sensibilisierung und bei einer nachfolgenden Halothan - Narkose zu einer Leberschädigung führt (STIER 1975).

III. DAS HALOTHAN-PROBLEM FÜR DEN ANAESTHESISTEN

Die chronische Einwirkung auf das Anaesthesie-Personal wurde lange Zeit überhaupt nicht berücksichtigt. Die ersten Berichte über Messungen der Halothan-Dampf-Konzentration in Operationssälen erschienen 1969. In Amerika bestimmten LINDE und BRUCE (1969) die Halothan-Dampf-Konzentration in 104 Luftproben und 21 Operationssälen durch Gaschromatographie. Sie konstatierten bei Extremwerten von o ppm und 49 ppm einen Mittelwert von 8,5 ppm Halothan-Dampf. Die untersuchten Operationssäle waren alle gut ventiliert und mit Klimaanlagen ausgestattet. Sie maßen auch die Halothan-Dampf-Konzentration in der Ausatemluft von Anaesthesisten, während oder bald nach Verlassen des Operationssaales. Dabei ermittelten sie einen Mittelwert von 1.8 ppm und einen Maximalwert von 12.2 ppm.

Gaschromatographische Messungen der Halothan-Dampf-Konzentration in der Luft von Operationssälen wurden auch von SCHULZE et al. (1969) durchgeführt. Der Mittelwert der Halothan-Dampf-Konzentration lag mit etwa 1000 ppm sehr hoch. Bei Maskennarkosten betrugen die Mittelwerte aller Proben 1680 ppm, bei Endotrachealnarkosen 610 ppm. Es wurde jedoch betont, daß die Säle, aus denen die Luftproben entnommen waren, sehr klein und ohne installierte Klimaanlage waren.

HALLEN et al. (1970) bestimmten die Halothan-Konzentration in der Luft des Operationssaales, in der Expirationsluft und im Venenblut des Personals während und unmittelbar nach Narkosen. Dabei enthielt die Luft in 1.2 m über dem Boden in unmittelbarer Umgebung zum Auslaßventil 15 - 290 ppm, in weiterer Distanz bis zu 28 ppm. Die Expirationsluft des im Operationssaal tätigen Personals enthielt bis zu 31 ppm Halothan. In den Venenblutproben fanden sich 0.021 - 0.63 ppm Halothan, das entspricht rund 4 - 120 µg/100 ml.

Die von GOSTOMZYK et al. (1973) gefundenen Halothan-Blutspiegel bei Anaesthesisten lagen mit 4 - 77 µg/100 ml ebenfalls in diesem Konzentrationsbereich. CORBETT und BALL ermittelten 1971 Halothan-Dampf-Konzentrationen von 10 ppm im Operationssaal.

In der Atemzone von sechs Anaesthesieschwestern in fünf verschiedenen Operationssälen wurde eine durchschnittliche Halothan-Dampf-Konzentration von 14 - 59 ppm gemessen, d.h. eine Anaesthesieschwester ist im Jahr etwa 25.000 - 30.000 ppm Std. ausgesetzt und das entspricht zwei Patientenendosen (GÖTTEL et al. 1972). 13 - 15 ppm betrug die mittlere Halothan-Dampf-Konzentration in der Operationssaalluft bei einer mittleren Einstellung von 1.5 Vol.-% im Verdampfer (SCHULZE et al. 1972).

Messungen von JOHNSTONE et al. (1975) ergaben Halothan-Konzentrationen von 30 und 104 ppm in Kopfhöhe des Anaesthesisten. Auch in Frankreich machten DESBAUMES et al. 1975 Untersuchungen über die Halothan-Konzentration in Operationssälen. In der Nähe des Anaesthesisten betrug die gemessene Konzentration bei offenem System im Mittel 19.2 ppm und bei halboffenem System 8.7 ppm. 1,5 m vom Auslaßventil entfernt lag die Konzentration beim offenen System im Mittel immer noch 9.2 ppm und beim halboffenen System bei 5.2 ppm. Vor Beginn des Tagesprogramms im Operationssaal lag die Halothan-Konzentration bei 1 ppm und mehr und sie erhöhte sich im Laufe des Tages auf über 32 ppm ohne Luftreinigung.

Durch Luftreinigung konnte zwar ein Rückgang der Konzentration erreicht werden, jedoch nur auf einen Durchschnittswert von 14 ppm (KNIGHTS et al. 1976).

In einer Dissertationsschrift der Universität Tübingen aus dem Jahre 1977, in der die chronische Narkosebelastung des Anaesthesie- und Operationssaalpersonal unter besonderer Berücksichtigung des Halothans untersucht wurde, wurden bei offenem Austritt der Narkosegase über das Überschußventil in die Raumluft Halothan-Dampf-Konzentrationen von 8.8 - 12.1 ppm gefunden. In besser ventilierten Räumen mit einer suffizienten Klimaanlage reicherte sich weniger Narkosegas an: ohne Halothanfilter fanden sie nur noch Konzentrationen um 3 ppm bei Intubationsnarkosen und bis zu 7.6 ppm bei Maskennarkosen. In den Operationssälen, die anschließend mit einer Klimaanlage und einer modernen Narkotika-Absauganlage ausgestattet wurden, bewegte sich die Halothan-Dampf-Konzentration zwischen 0 - 0.3 ppm und zwar

unabhängig von der Raumgröße und der verwendeten Narkosetechnik (PIRSCHEL, 1977).

WHITCHER et al. (1971) fanden in der Ausatemluft von Anaesthesisten noch nach 16 Stunden meßbare Mengen von Halothan. Das bedeutet, daß es bei Anaesthesisten zu einer Kumulation kommt, da sie vor der völligen Elimination des Halothans einer neuen Exposition ausgesetzt sind. In einer Untersuchung von NIKKI et al. (1972) betrug die Halothan-Konzentration in der Ausatemluft des Personals in einem Operationssaal mit Reinigungssystem durchschnittlich 0.06 ppm; ohne Reinigungssystem lag der Durchschnittswert bei 0.55 ppm.

Die Halothan-Blutkonzentration des Operationssaal-Personals lag mit Reinigungssystem durchschnittlich bei 3.3 µg/100 ml und ohne Reinigungssystem bei 5.0 µg/100 ml Blut. Über einen Zeitraum von 4 Stunden täglich ist der Anaesthesist einer Halothan-Konzentration von 0.008 - 0.0165 µl/100 ml Blut ausgesetzt, wobei Spitzenkonzentrationen von Halothan bis zu 0.055 µl/100 ml Blut gemessen wurden (SCHULZE et al. 1972).

In einer Dissertationsschrift aus dem Jahre 1974 über den Halothangehalt in der Ausatemluft von Anaesthesisten wurden folgende Werte gefunden: bei Intubationsnarkosen 3 - 13 ppm, bei Maskennarkosen 7 - 45 ppm und beim Nichtrückatmungssystem, welches bei Säuglingen verwendet wird, 1 - 243 ppm (HANF 1974). Außerdem fand man, daß bei einer Halothan-Umgebungskonzentration von 17 ppm, die Konzentration in der Ausatemluft des Anaesthesisten rund 0.8 ppm beträgt, gemessen 1 Stunde nach Operationsende (DESBAUES et al. 1975).

Die Halothan-Blutkonzentration des Personals eines ophthalmologischen Operationssaals ohne Ventilation lag im Durchschnitt bei 37.4 µg/100 ml und in einem anderen Operationsraum mit Ventilation bei 13.1 µg/100 ml (BRACHET - LIERMAIN et al. (1977).

Über die Nebenwirkungen des Halothans besonders bei chronischer Exposition findet man in der Literatur zahlreiche Berichte. BELFRAGE et al. (1966) berichten über einen 32-jährigen Anaesthesisten, der nach dreimonatiger Exposition gegenüber

Halothan plötzlich an Fieber, Nausea, Müdigkeit und Myalgie erkrankte. Innerhalb kurzer Zeit wurde er ikterisch mit einer Eosinophilie von 10 %. Seine Kollegen dachten an eine mögliche Halothan-Sensibilisierung und gaben ihm eine minimale Dosis als Provokationstest. Innerhalb von fünf Stunden waren alle Symptome wie beim erstenmal voll ausgeprägt. Seine SGPT betrug 1590 IE mit einer Eosinophilie von 7 %. Ein Berufswechsel erfolgte.

In der Sowjetunion wurden an 354 untersuchten Anaesthesisten, die regelmäßig mit Halothan arbeiteten, sehr häufig Entzündungen der Atemwege, Kopfschmerzen und Müdigkeit festgestellt. Von 31 schwangeren Anaesthesistinnen in dieser Studie hatten 18 einen Spontanabort und nur 7 Schwangerschaften konnten als komplikationslos angesehen werden (VAISMAN 1967). Leider fehlt in dieser Arbeit eine Kontrollgruppen. In einer von BRUCE et al. (1968) durchgeführten Studie, die einen Zeitraum von 20 Jahren überblickt, stellte man die Todesursache von 441 jungen Anaesthesisten fest. Dabei konnte man verzeichnen, daß mehr bösartige Erkrankungen des lymphoiden und reticuloendothelialen Systems zum Tode geführt hatten als bei einer Kontrollgruppe. Außerdem konnte man eine zweifache höhere Suizidrate (sicherlich psychisch und physisch bedingt) vermerken und schließlich stellte man fest, daß Erkrankungen der Koronarien wohl die häufigsten Todesursachen sind (Stress). SCHULZE et al. (1969) machten die Beobachtung, daß der Anaesthesist, der über längere Zeit am Tag mit dem Halothan arbeitet, unter Kopfschmerzen, Benommenheit, Herzsensationen und Müdigkeit zu leiden hat. Besonders in den ersten Monaten des Umganges mit Halothan sind diese Erscheinungen auffällig.

In den Jahren 1966 - 1970 endeten 29.7 % der Schwangerschaften von Operationsschwestern mit einer spontanen Fehlgeburt gegenüber 8.8 % in einer Kontrollgruppe. Bei den Anaesthesistinnen betrug die Zahl 37.8 % gegenüber 10.3 % in der Kontrollgruppe. Nach COHEN et al. (1971) besteht kein Zweifel, daß die spontane Fehlgeburtsrate bei Operationsschwestern und Anaesthesistinnen signifikant höher liegt als in den Kontrollgruppen. Diese Ergebnisse lassen eine erhöhte fetale Sterblichkeit ver-

muten, wahrscheinlich verursacht durch Anaesthesiegase. Die Autoren geben jedoch zu bedenken, daß andere Faktoren, die ebenfalls die beobachteten Ergebnisse beeinflußt haben könnten, in dieser Studie nicht berücksichtigt wurden. So sei es z.B. möglich, daß der ungewöhnlich hohe Stress im Operationssaal, Spezialsprays und Speziallösungen, die nur im Operationssaal verwendet werden, genauso wie andere unbekannte Faktoren angeschuldigt werden könnten.

In einem anderen Bericht aus dem Jahre 1971 fragen LENCZ und NEMES, ob für Anaesthesisten eine kürzere Lebenserwartung als bei anderen Ärzten besteht. Dabei stellten sie fest, daß von 24 Schwangerschaften bei Anaesthesistinnen und Anaesthesieschwestern 10 mit einem Spontanabort und zwei mit einer Frühgeburt endeten. Neun verliefen allgemein pathologisch. Weiter wurde in diesem Bericht festgestellt, daß die Anaesthesisten häufiger an Infektionen der Atemwege, Konjunktivitis, Hepatitis, Periodonditis und Überempfindlichkeitsreaktionen erkrankten als die Gesamtbevölkerung. Dazu kamen auch die charakteristischen subjektiven Symptome wie Kopfschmerzen, Reizbarkeit, Depressionen, Schlafstörungen, Darmbeschwerden und Gewichtsverlust.

Untersuchungen von COHEN et al. (1974) zeigen, daß weibliche Beschäftigte im Operationssaal einem zunehmenden Risiko von Spontanaborten, kongenitalen Fehlbildungen ihrer Kinder, Krebs und Leber- und Nierenerkrankungen ausgesetzt sind. Neuere Erhebungen von PHAROAH et al. aus dem Jahre 1977 ergeben außerdem, daß die Kinder von Anaesthesisten ein niedrigeres Geburtsgewicht und häufiger kongenitale Mißbildungen des kardiovaskulären Systems haben.

Im Ames-Test erwies sich Halothan als nicht mutagen. Dies schließt jedoch die Möglichkeit nicht aus, daß Halothan für das Operationssaal-Personal, welches ständig dem Halothan ausgesetzt ist, karzinogen ist (BADEN et al. 1976).

WASKELL (1979) untersuchte erst in jüngerer Zeit auch zwei flüchtige Metaboliten des Halothans im Ames-Test auf Mutage-

nität, 1,1 -Difluor-2-brom-2-chloräthylen und 1,1,1 -Trifluor-2-chloräthan erwiesen sich in diesem bakteriellen System als nicht mutagen. Dennoch warnt er vor jedem unnötigen Kontakt mit diesem Stoff, da frühere Untersuchungen eindeutig einen schädlichen Effekt des Halothan zeigen konnten.

Auch Untersuchungen an höheren Organismen haben bisher keinen eindeutigen Hinweis auf ein mutagenes Potential von Halothan ergeben. Allerdings liegt ein Befund von Felduntersuchungen am Menschen vor, wonach im Operationssaal beschäftigtes Personal, das auch der Einwirkung von Halothan ausgesetzt war, im Harn Stoffe ausscheidet, die an Mikroben mutagen wirksam sind (ROSENKRANZ et al., 1977).

Gasmengen im Operationssaal scheinen die chromosomale Struktur der Mitose in Zellen von chronisch exponierten Schwestern nicht zu stören und es ist unwahrscheinlich, daß die Chromosomen in der Meiose beeinflußt werden (ROSENBERG et al., 1977).

JACKSON (1973) kam bei Untersuchungen an Leberzellen von Säugetieren zu dem Ergebnis, daß Halothan nicht den Thymidin-Transport beeinflußt, sondern daß es entweder den Prozeß der Phosphorylisierung von intrazellulärem Thymidin oder den synthetischen Einbau von phosphorylierten Thymidinderivaten in die DNA hemmt.

CASCORBI et al. (1970) stellten fest, daß die Metabolisierung von Halothan bei Anaesthesisten größer ist als bei Pharmazeuten. Dies läßt vermuten, daß durch chronische Einatmung von Halothan-Dämpfen eine mikrosomale Enzyminduktion erfolgt.

Die chronische Verabreichung von Trifluoressigsäure an Ratten bewirkt eine deutliche Vergrößerung der Leber und eine deutliche Änderung in ihrem Enzymmuster (SCHIMASSEK et al. 1966).

METHODIK

I. LEBERPRÄPARATION

Als Versuchstiere dienen weibliche Ratten (Wistar) mit einem Gewicht von 180 - 260 Gramm. Die Tiere erhalten zur Narkose 0.5 ml/100 g Körpergewicht Pentobarbital - Natrium (50 mg/ml Nembutal^{R}) intraperitonal. Um die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herabzusetzen, wird den Tieren vor der Präparation 1 ml einer 0.4%iger Heparinlösung in die Schwanzvene injiziert. Die Präparation wird in Anlehnung an HEMS u. Mit. (1966) und MILLER (1973) durchgeführt.

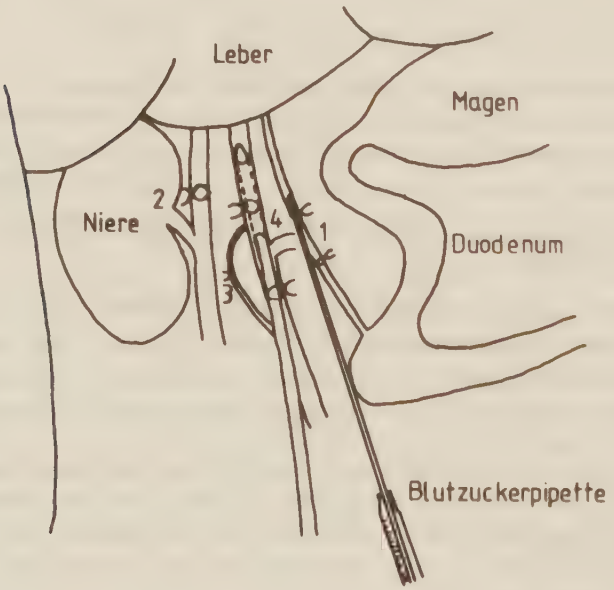


ABB. 1: Schematische Darstellung der Leberpräparation

Durch einen Medianschnitt wird die Bauchhöhle von der Symphyse bis zum Sternum eröffnet (Abb. 1). Nach Darstellung des Gallenganges (1) wird in diesen ein Katheder (Ø 0.5 mm) eingebunden. Anschließend wird die untere Hohlvene (2) oberhalb der Einmündung der Nierenvenen umschlungen, ebenso die Arteria hepatica (3). Nun erfolgt nach Legen einer doppelten Ligatur die Katheterisierung (Ø 1.5 mm) der Pfortader (4).

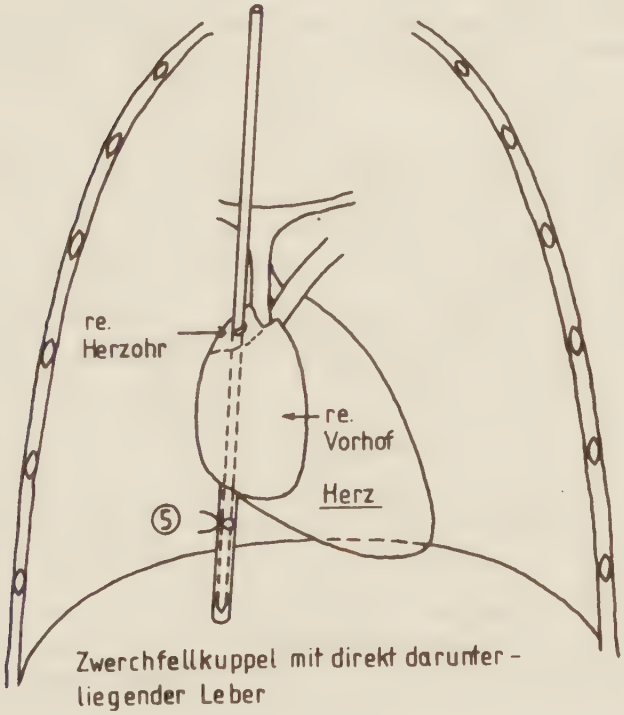


ABB. 2: Schematische Darstellung der Leberpräparation

Nach einwandfreier Lage des Katheters wird der Brustkorb schnellstmöglich eröffnet, das Herz freigelegt, das rechte Herzohr angeschnitten und ein weiterer Katheter (Ø 2 mm) durch den rechten Vorhof hindurch in die untere Hohlvene bis zu den Lebervenen gelegt und fixiert (5) (Abb. 2).

Anschließend wird das Präparat an den Kreislauf angeschlossen. Die Leber wird im Tier belassen, um einmal die physiologische Lage des Organs in situ zu garantieren, zum anderen um die sogenannte Ischämie-Phase der Leber möglichst kurz zu halten. Die Ischämie-Phase darf nicht länger als 5 Minuten sein. Nach Anschluß der Rattenleber an den künstlichen Kreislauf werden die untere Hohlvene und die Arteria hepatica unterbunden.

II. PERFUSIONSMEDIUM

Das Perfusionsmedium besteht aus 72 ml einer besonders aufbereiteten Nährlösung nach Krebs - Henseleit.

Sie setzt sich wie folgt zusammen:

100 Teile	0.9 %	NaCl
4 Teile	1.15 %	KCl
3 Teile	0.11 n	$CaCl_2$
1 Teil	2.11 %	KH_2PO_4
1 Teil	3.82 %	$MgSO_4$
21 Teile	1.3 %	$NaHCO_3$
5 Teile	5.4 %	Glucose
1.8 g		Serumalbumin vom Rind

Zu dieser Nährlösung gibt man 48 ml gewaschener Erythrozyten. Man benutzt Rindererythrozyten, die zweimal in 0.9 %iger Kochsalzlösung und einmal in der Nährlösung (ohne Albuminzusatz) gewaschen und anschließend jeweils abzentrifugiert werden.

Rintererythrozyten sind nach SCHIMASSEK (1963) für ein "Vereinfachtes Blut" besonders gut geeignet, da sie

1. langsam sedimentieren,

2. nicht agglutinieren,

3. einen kleineren Durchmesser (5 - 6 µ) besitzen als Rattenerythrozyten (8 - 10 µ).

Beide Teile des Perfusats werden in das Blutreservoir gegeben und mittels Magnetrührer gut durchmischt. Kurz nach Anschluß der Rattenleber an den künstlichen Kreislauf werden nochmals 1 ml der 0.4%igen Heparinlösung in das Blutreservoir gegeben.

III. LEBERFUNKTIONSPRÜFUNGEN

Nach Anschluß der isolierten Rattenleber an den künstlichen Kreislauf befindet sich das Organ in einem unphysiologischen Zustand, der durch den Durchblutungsstop während der Präparation hervorgerufen wird. Erst nach 30-minütiger, maximaler Durchströmung des Organs mit gut sauerstoffgesättigtem Perfusat wird der "funktionelle aerobe Zustand" erreicht, der es dann gestattet, die jeweils zu untersuchende Substanz dem Perfusionsmedium zuzusetzen.

Folgende Bestimmungen wurden während der einzelnen Versuche durchgeführt, um einen guten Funktionszustand der isolierten Leber zu sichern:

1. Begutachtung der Leber (z.B. Färbung der Oberfläche), Lebern die vertrombt oder gestaut waren kamen nicht zur Auswertung.

2. Prüfung der Temperatur mittels eines in der Perfusionskammer befindlichen Thermometers. Diese Temperatur wurde konstant auf 37°C gehalten, außerdem wurde für eine ausreichende Luftfeuchtigkeit in der Kammer gesorgt.

3. Bestimmung des Leberperfusatdurchflusses pro Minute alle 30 Minuten. Dazu benutzten wir jeweils ein graduiertes 10 ml-Gläschen, in das wir genau 30 Sekunden lang Blut aus dem Herzkatheter sammelten. Die erhaltenen Werte lagen zwischen 1.0 - 1.5 ml/min pro g Lebergewicht und entsprachen somit dem physiologischen Flußvolumen in situ.

4. Bestimmung des Laktat/Pyruvat - Quotienten zu Beginn, nach 60 Minuten, nach 120 Minuten und nochmals am Ende des Versuches nach 180 Minuten.

   a) Bestimmung des Laktat:

      Die Laktatdehydrogenase katalysiert die Dehydrierung von Laktat durch NAD^+:

      $$\text{Laktat} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{Pyruvat} + NADH + H^+$$

Der Ablauf der Reaktion wird spektrophotometrisch bei 366 nm durch NADH-Bildung gemessen.
(Reagentien und Durchführung siehe UV-Text mit LDH, Boehringer Best.-Nr. 15972)

b) Bestimmung von Pyruvat:

Die LDH katalysiert die Hydrierung von Pyruvat mit reduziertem NADH:

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons \text{Laktat} + NAD^+$$

Photospektrometrisch wird die Extinktionsabnahme bei 366 nm durch NADH-Verlust gemessen.
(Reagentien und Durchführung siehe UV-Text mit LDH, Boehringer, Best.-Nr. 15973).

Nach SCHIMASSEK ist ein befriedigender, funktioneller Status der isolierten Rattenleber erreicht, wenn der L/P-Quotient ca. 10 beträgt. Für unsere Arbeit ergaben sich folgende Mittelwerte:

0 Minuten:	8.8
60 Minuten:	10.0
120 Minuten:	11.4
180 Minuten:	18.8

5. Die Galle wurde pro 30 Minuten gesammelt. Der gemessene Gallefluß lag im Bereich von 0.05 - 0.12 ml/15 min, was für eine ausreichende Syntheseleistung der Leber spricht.

IV. BESCHREIBUNG DES VERSUCHSAUFBAUS

1) Verdampfungsanlage

Zur Herstellung der gewünschten Halothankonzentration im Gas, welches den Filmoxygenator (4) durchströmt, bedienen wir uns einer einfachen, erstmalig von HOFMANN u. Mitarb. (1972) beschriebenen Apparatur. Sie arbeitet nach folgendem Prinzip:

Jede verdampfbare Flüssigkeit entwickelt bei einer gegebenen Temperatur gesättigten Dampf mit einer bestimmten Dampfdichte und einem bestimmten Dampfdruck über dem Flüssigkeitsspiegel. Bei konstanter Temperatur nimmt die Dampfdichte mit zunehmender Entfernung vom Flüssigkeitsspiegel exponentiell ab. Leitet man nun ein minimales Luftvolumen pro Zeit über die konstant temperierte Flüssigkeit hinweg und führt es durch ein Steigrohr ab, so wird das Luftvolumen pro Zeit mit einer der bestehenden Dampfdichte entsprechenden Dampfmenge beladen. Je tiefer das Steigrohr in den gesättigten Dampf eintritt, desto mehr Dampf wird mit dem Luftvolumen entfernt. Zur Einstellung einer bestimmten Konzentration gibt es demnach 3 Variable:

1. Temperatur der Flüssigkeit

2. Gas - Zeit - Volumen

3. Steigrohrhöhe h

Das Gas-Zeit-Volumen soll möglichst niedrig sein, um das Konzentrationsgefälle des Dampfes nicht durch Turbulenzen zu zerstören. Aus diesem Grunde teilten wir den Gasstrom im Verhältnis 1/100, wobei das kleine Gas - Zeit - Volumen die Verdampfungsanlage (1) passiert und hier mit Halothan angereichert wird. Das große Gas - Zeit - Volumen, welches für alle Versuchsserien konstant gehalten wurde (800 ml/min), wird im Gegenstromprinzip über einen 37°C thermostatisierten Wasserstrom (2) geleitet und hierbei mit Wasserdampf gesättigt. In einer Mischkugel (3) treffen die beiden Gasströme wieder zusammen und gelangen von da aus in den Filmoxygenator (4).

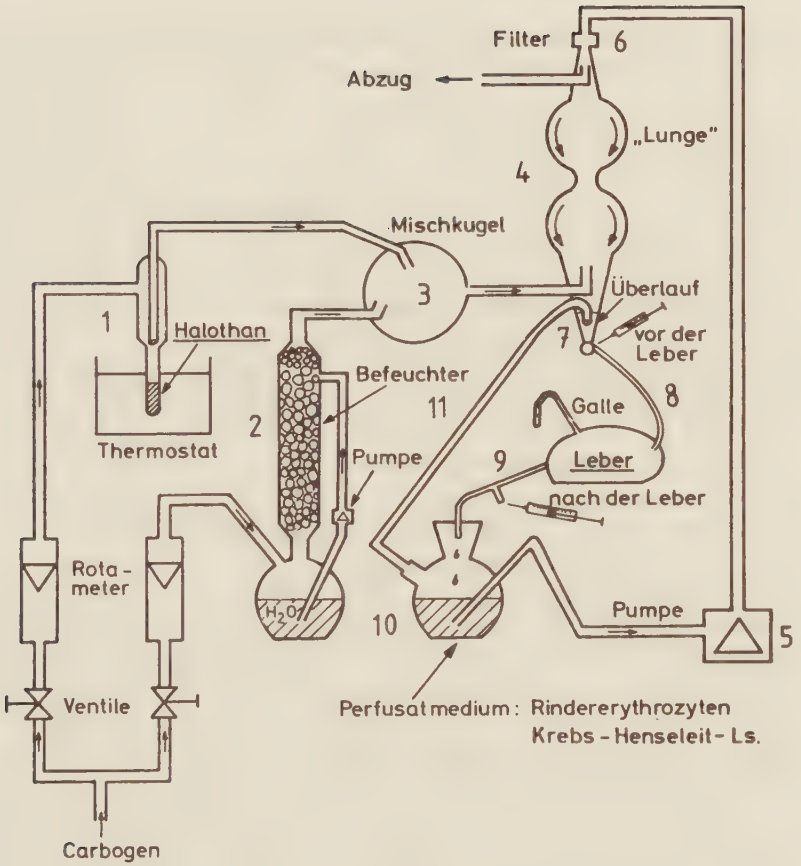


ABB. 3: Skizze des Versuchsaufbaus

Als Atemgas verwendeten wir Carbogen in der Zusammensetzung von 95 % O_2 und 5 % CO_2.

a) Eichung

Unsere Versuche erstreckten sich über den Bereich von 13 - 3200 ppm Halothan. Es wurden folgende Konzentrationen untersucht: 13, 50, 200, 450, 700, 1600, 2500 und 3200 ppm. Pro Konzentrationsbereich wurde eine Versuchsserie von vier Versuchen ausgeführt. Die pro Versuchsserie gewünschte Halothan-Konzentration wurde vor Beginn der Serie mit Hilfe der drei Variablen in der Verdampfungsanlage eingestellt. Da für uns die Konzentration im Filmoxygenator entscheidend war, wurden aus diesem mit Hilfe einer Gasspritze eine 1 ml-Gasprobe gezogen, diese wurde in 2 ml n-Heptan eingespritzt, ausgeschüttelt in diesem gaschromatographisch die Konzentration bestimmt. Die Berechnung wurde nach folgender Formel vorgenommen:

$$\text{ppm Halothan} = c \times 240$$

wobei: c = Konzentration im n-Heptan (µg/ml)

240 = Avogadro-Faktor bei $25^{\circ}C$

Dabei ergaben sich große Schwierigkeiten in der Verdampfungsanlage beim Einstellen der höchsten und der niedrigsten Konzentration. Bei 3200 ppm war die verdampfte Menge an flüssigem Halothan so groß, daß sich der Abstand Flüssigkeitsspiegel - Steigrohr ständig vergrößerte. Dadurch nahm die Halothan-Konzentration im Laufe der Versuchsdauer von 3 Stunden ständig ab. Auch als wir die Oberfläche des Flüssigkeitsspiegels vergrößerten, indem wir statt eines Ø 16 mm Reagenzglases einen Rundkolben verwendeten, konnte die Konzentration nicht konstant gehalten werden. Erst mit Hilfe eines Perfusator, der kontinuierlich über drei Stunden die Menge an verdampften Halothan wieder zuführte, konnte eine stabile Konzentration im Filmoxygenator erreicht werden.

Bei der niedrigsten Konzentration von 13 ppm lag das Problem darin, daß trotz extremer Bedingungen, d.h. sehr niedriger Temperatur (- $10^{\circ}C$), minimalem Gas-Zeit-Volumen (3 ml/min) und höchst-

möglicher Steighöhe, immer noch zu viel Halothan abdampfte. Die gewünschte Konzentration konnte schließlich erreicht werden, als wir die Flüssigkeitsoberfläche verkleinerten. Dazu stellten wir in ein normal großes Reagenzgläschen mit einem Durchmesser von 16 mm ein kleineres Gläschen mit einem Durchmesser von 8 mm und füllten den Zwischenraum wegen der Wärmeübertragung mit Silikonöl aus.

2) Künstlicher Kreislauf
(siehe Abb. 3)

Eine Schlauchpumpe (5) pumpt das Perfusat durch einen Maschenfilter (6) in den Filmoxygenator (4). Hier wird das Hämoglobin mit Sauerstoff aufgesättigt. Angeboten wird Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2, Durchflußgeschwindigkeit 800 ml/min). Der Blutfluß im Filmoxygenator beträgt ca. 25 ml/min. Am Ende des Oxygenators bildet das mit Sauerstoff und Halothan aufgesättigte Perfusat ein konstantes Niveau (7). Es bestimmt über den hydrostatischen Druck, der in den Lebergefäßen herrscht, die Flußgeschwindigkeit des Perfusats durch die Leber. Das Blut gelangt über den Pfortaderkatheter (8) in die Leber und von da aus über den Cavakatheter (9) wieder zurück ins Reservoir (10). Das Restblut wird durch einen Heber - Überlauf (11) direkt dem Blutreservoir zugeführt.

Das Atemgas gelangt aus der Mischkugel von unten in den Filmoxygenator und verläßt ihn wieder durch eine Öffnung, die direkt zum Abzug führt.

Es handelt sich bei diesem künstlichen Kreislauf also um ein "offenes System", da entstehende flüchtige Stoffe durch die Leberoberfläche abgeatmet werden können.

Blutproben werden jeweils prähepatisch (vor der Leberpassage) und posthepatisch (nach der Leberpassage) entnommen.

V. ANALYTIK

1) Probenaufarbeitung

Folgende Substanzen werden bestimmt:

- Halothan-Konzentration im Perfusat prä- und posthepatisch,
- angebotene Halothan-Konzentration in ppm im Filmoxygenator,
- Trifluoressigsäure-Konzentration im Perfusat prähepatisch,
- Trifluoressigsäure-Konzentration in der Galle,
- Trifluoressigsäure-Menge im Lebergewebe nach Versuchsende.

1. Angebotene Halothan-Konzentration im Filmoxygenator:

   Um während des dreistündigen Versuches ein konstantes Halothan-Angebot zu garantieren, wurde alle 30 Minuten vor dem Eintritt in die künstliche Lunge mit einer Gasspritze eine Luftprobe genommen. Sie wurde wie oben beschrieben aufgearbeitet und die Konzentration errechnet.

2. Halothan-Konzentration im Perfusat prä- und posthepatisch:

   Um die Anstiegsphase der Halothan-Konzentration im Perfusat besser zu erfassen, wurde zu Beginn des Versuches nach 5, 10, 20 und 30 Minuten jeweils eine Blutprobe prä- und posthepatisch entnommen. Nach Erreichen eines "steady state" wurde nur noch pro halbe Stunde eine Probe gezogen. Die Proben wurden mit einer 1 ml-Glasspritze entnommen.

   1 ml Probe wird in 2 ml gekühltes Heptan gespritzt. In den 2 ml n-Heptan befindet sich, als innerer Standard für die gaschromatographische Bestimmung, 20 µl Ethrane 1 : 100. Anschließend werden die Proben für 30 Minuten unter Kühlung geschüttelt, kurz zentrifugiert und aus dem Überstand gaschromatographisch die Halothan-Konzentration bestimmt.

3. Trifluoressigsäure-Konzentration im Perfusat:

   Zur Bestimmung des Trifluoressigsäure (TFA) wurden halbstündlich 3 ml Perfusat entnommen und in 4 ml Perchlorsäure gegeben und so enteiweißt. Nach Zentrifugieren und Abdekan-

tieren gibt man einen Tropfen Methylrot dazu und neutralisiert mit 5 n KOH bis zum Umschlagspunkt. Das enteiweißte Blut wird anschließend in ein Mikrodestillationskölbchen pipettiert (2 ml), in dem sich ein Gemisch aus 9.5 g $KHSO_4$ und 500 mg Ag_2SO_4 befindet. Diese Kölbchen werden evakuiert und anschließend destilliert. TFA destilliert wegen des niedrigen Siedepunktes von 80°C als freie Säure über und wird so von der Hauptmenge der störenden Begleitsubstanzen abgetrennt. Die Destillationsausbeuten lagen um 96 %.

Das Destillat wird anschließend mit 0.01 n KOH auf einen pH-Bereich zwischen 5.8 - 6.2 eingestellt. Anschließend wird 1 ml dieser Lösung im Stickstoff-Strom eingeengt. Um die TFA gaschromatographisch darstellen zu können, wird mit Hilfe einer Derivatisierungsreagenz der Pentafluorobenzylester der TFA gebildet. (Das Derivatisierungsreagenz setzt sich wie folgt zusammen: Pro 1 ml Acetonitril 2 µg Pentafluorobenzylbromid und 500 µg Bicyclohexyl - 18 - crown - 6). Nach einer 4-stündigen Derivatisierungszeit bei 80°C wird die Lösung in den Gaschromatographen gespritzt. Als gut abtrennbaren inneren Standard verwendeten wir Heptafluorobuttersäure.

4. TFA-Konzentration in der Galle:

Die pro 30 Minuten gesammelten Galleportionen werden mit Aqua dest. auf 2 ml aufgefüllt und anschließend wie oben beschrieben destilliert und aufgearbeitet.

5. TFA-Menge im Lebergewebe:

Die Rattenlebern werden nach Versuchsende gewogen und zunächst eingefroren. Zur Aufarbeitung wird ein Gramm Lebergewebe mit 5 ml 20%iger Schwefelsäure in einem Homogenisator homogenisiert. Dieses Homogenisat füllt man in ein Gläschen, welches anschließend zugeschmolzen und für 12 Stunden bei 100°C aufbewahrt wird. Nach Filtrierung der Lösung wird sie ebenfalls wie oben beschrieben destilliert und weiter aufgearbeitet.

2) Gaschromatographische Bestimmung

a) Halothanbestimmung

Wir verwendendeten für die gaschromatographische Bestimmung ein Gerät der Firma Hewlett Packard, Modell 419, das mit einem Elektroneneinfang - Detektor ausgerüstet ist.

ABB. 4: Halothanchromatogramm

Als Trägergas dient Argon-Methan 95/5 . Aus Tabelle 1 sind die GC - Bedingungen für die Halothan-Bestimmung zu entnehmen.

Säulenmaterial:		OV 101
Temperaturen:	I.P.	130 °C
	Säule	60 °C
	ECD	240 °C
Trägergasflux:		0.5 µl
Empfindlichkeit:		32

TAB. 1: Bedingungen zur Halothan-Bestimmung

Als interner Standard wurde Ethrane 1 : 100 verwendet. Da die entsprechenden Peaks symmetrisch und schlank waren (Abb. 4), beschränkten wir uns darauf, die Peakhöhen auszumessen. Vor Versuchsbeginn wurde zu bekannten Halothan-Konzentrationen das Peakhöhenverhältnis ermittelt und so eine Eichgerade aufgestellt. Diese Eichkurve verläuft bis zu einer Konzentration von 0.3 µg/ml linear und flacht dann ab. Aus diesem Grunde versuchten wir durch entsprechende Verdünnungen die Messungen auf den linearen Bereich zu beschränken.

b) TFA-Bestimmung

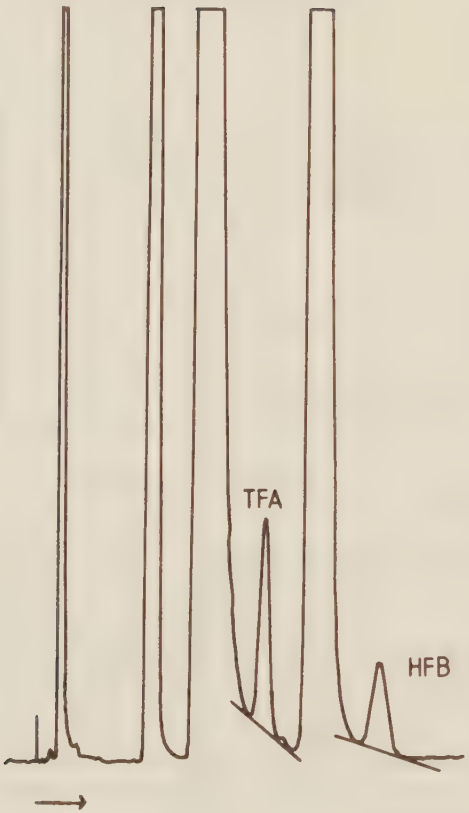


ABB. 5: TFA - Chromatogramm

Zur TFA-Bestimmung verwendeten wir ein Gerät der Firma Hewlett Packard, Modell 5710 A, welches ebenfalls mit einem Elektronen-einfang - Detektor ausgerüstet ist. Als Trägergas dient ebenfalls Argon-Methan 95/5 .

Tab. 2 zeigt die GC - Bedingungen zur TFA - Bestimmung.

Säulenmaterial	FS 1265
Temperaturen: I.P. Detektor Säule	200 °C 250 °C 100 °C
Trägergasflux	30 ml/min
Eingespritzte Menge	0.2 µg
Empfindlichkeit	16 - 512

TAB. 2: GC - Bedingungen zur TFA-Bestimmung

Als interner Standard diente uns die Heptafluorobuttersäure. Auch hier beschränkten wir uns darauf, die Peakhöhen auszumessen (Abb. 5). Die aufgestellte Eichkurve verläuft linear im Bereich von 0.4 - 12.8 µg/ml TFA.

3) Berechnung der Umsatzraten

a) Halothan-Aufnahmerate pro Zeiteinheit

Sie errechnet sich aus der Konzentrationsdifferenz prä- und posthepatisch multipliziert mit dem Perfusatfluß, und sie ist bezogen auf 1 g Leberfeuchtgewicht.

$$\text{Hal.-Aufnahme} = dc \times \frac{V}{t} \times \frac{1}{LG} \qquad (1)$$

Dabei gilt: dc = Konzentrationsdifferenz prä- und posthepatisch

$\frac{V}{t}$ = Leberperfusatdurchfluß

LG = Leberfeuchtgewicht

Die Gesamtaufnahme erhält man dann, indem man die Aufnahmerate mit einem beliebigen Zeitintervall multipliziert.

$$\text{Gesamtaufnahme} = dc \times \frac{V}{t} \times \frac{1}{LG} \times dt \qquad (2)$$

Die Gleichungen (1) und (2) können zur Berechnung der Gesamtaufnahme nur dann verwendet werden, wenn der prä- und posthepatische Substratspiegel ein Plateau beschreibt, d.h. wenn sich ein "steady state" eingestellt hat.

b) Metabolisierter Anteil

Er errechnet sich aus der prä- zu posthepatischen Konzentrationsdifferenz dividiert durch die prähepatische Konzentration.

$$\text{metabolisierter Anteil} = \frac{dc}{c_{\text{prähep.}}} \quad (\%) \qquad (3)$$

wobei: dc = Konzentrationsdifferenz prä- zu posthepatisch

c = prähepatische Halothankonzentration

c) TFA - Bildungsrate und Gesamt - TFA - Bildung

Die Gesamtbildung eines Metaboliten für die Bilanzrechnung ergibt sich aus der im Perfusat vorhandenen Endkonzentration multipliziert mit dem Perfusatendvolumen

$$\text{TFA - Gesamtbildung} = c_{TFA} \times V \qquad (4)$$

wobei: c_{TFA} = TFA-Konzentration im Perfusat am Ende des Versuchs

V = Endperfusatvolumen

Die TFA - Bildungsrate errechnet sich aus der insgesamt gebildeten TFA dividiert durch die Gesamtzeit des Versuches (180 Minuten), und sie wird ebenfalls bezogen auf 1 g Leber.

$$\text{TFA - Bildungsrate} = c_{TFA} \times V \times \frac{1}{t} \times \frac{1}{LG)} \qquad (5)$$

dabei gilt: $c_{TFA} \times V$ = TFA - Gesamtbildung
t = Gesamtdauer des Versuches
LG = Leberfeuchtgewicht

Die Gleichungen (1) und (2) sind zur Berechnung der TFA-Bildungsrate selbstverständlich nicht zu verwenden, da der Metabolitspiegel im Perfusat wegen seiner Rezirkulation durch das Organ ständig zunimmt.

Die Resultate werden anschließend durch das Molekulargewicht der Substanz dividiert. Wir geben somit die Aufnahme- bzw. Bildungsraten an in

nMol/min $\times$ g^{-1} Leberfeuchtgewicht

und die Gesamtaufnahme bzw. -bildung in

nMol / g Leberfeuchtgewicht

Molekulargewichte: Halothan = 197.39
Trifluoressigsäure = 114.03

E R G E B N I S S E

I. PRÄHEPATISCHE HALOTHANKONZENTRATION

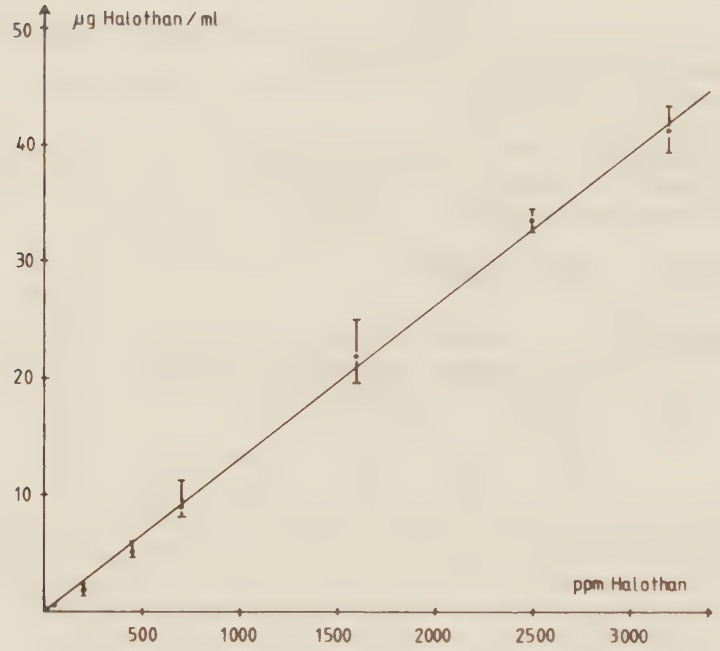


ABB. 6: Im Perfusat gelöstes Halothan µg/ml in Abhängigkeit vom Halothan-Angebot in ppm.

In Abb. 6 sind jeweils die Mittelwerte mit ihren Abweichungen aus 4 Versuchen dargestellt. Man sieht, daß ein linearer Zusammenhang besteht. Dies spricht für eine gute Funktion der Lunge bezüglich der Sättigung mit Halothan. Bei einem Halothan-

Angebot von 13 ppm beträgt die prähepatische Konzentration 0.2 µg/ml und sie steigt bei 3200 ppm auf einen Wert von 41.4 µg/ml. Aufgrund dieser Linearität kann man in den folgenden Kurven auch an Stelle der gasförmigen Halothan-Konzentration mit der prähepatischen Perfusatkonzentration arbeiten.

II. METABOLISIERTER ANTEIL

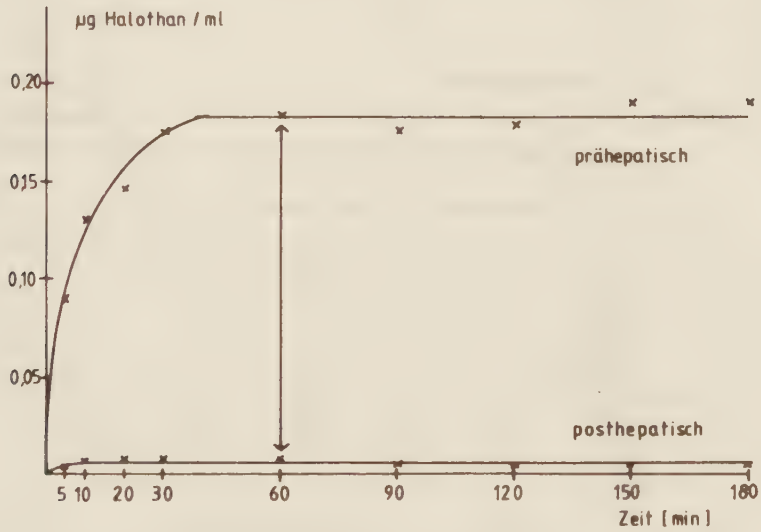


ABB. 7: Prä- und posthepatische Perfusatkonzentrationen über die Zeit des Versuches bei 13 ppm

Wie man deutlich aus Abb. 7 und Abb. 8 sehen kann, sind die Unterschiede im metabolisierten Anteil erheblich. Während bei einem Halothan-Angebot von 13 ppm, wie aus der großen Konzentrationsdifferenz ersichtlich, der metabolisierte Anteil bei 98 % liegt, beträgt er bei 3200 ppm nur noch 15 %.

Kennzeichnend für unsere Versuchsanordnung ist dabei, daß sich bereits nach spätestens 30 Minuten sowohl ein prä- als auch ein posthepatisches Konzentrationsplateau von Halothan im Perfusat ausbildet, welches über die weitere Versuchsdauer konstant bleibt. Alle Berechnungen wurden erst nach Erreichen dieses Plateaus vorgenommen, d.h. erst wenn sich ein "steady state" eingestellt hatte.

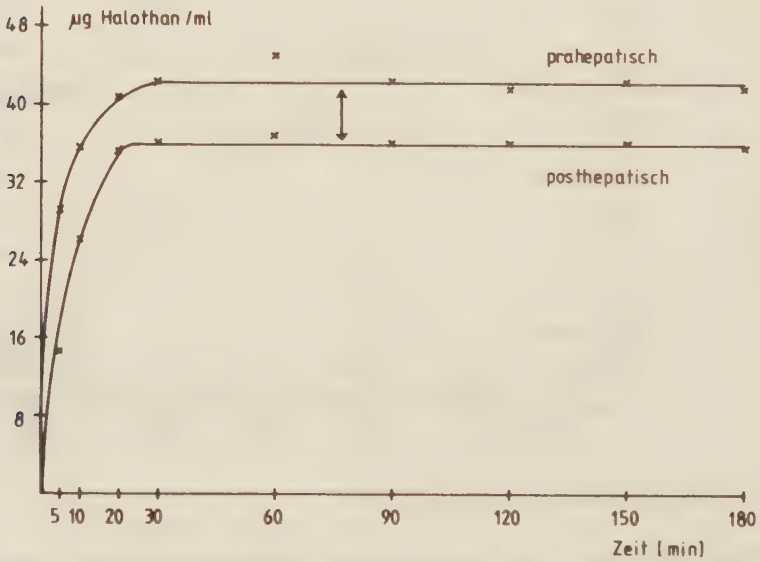


ABB. 8: Prä- und posthepatische Perfusatkonzentrationen über die Zeit des Versuches bei 3200 ppm

Trägt man nun für alle untersuchten Konzentrationsbereiche den entsprechenden metabolisierten Anteil in % in Abhängigkeit von der angebotenen gasförmigen Halothan - Konzentration in ein Koordinatensystem, so erhält man folgende Kurve in Abb. 9. Dabei handelt es sich wiederum um die errechneten Mittelwerte aus vier Versuchen mit der entsprechenden Streuung nach oben und nach unten.

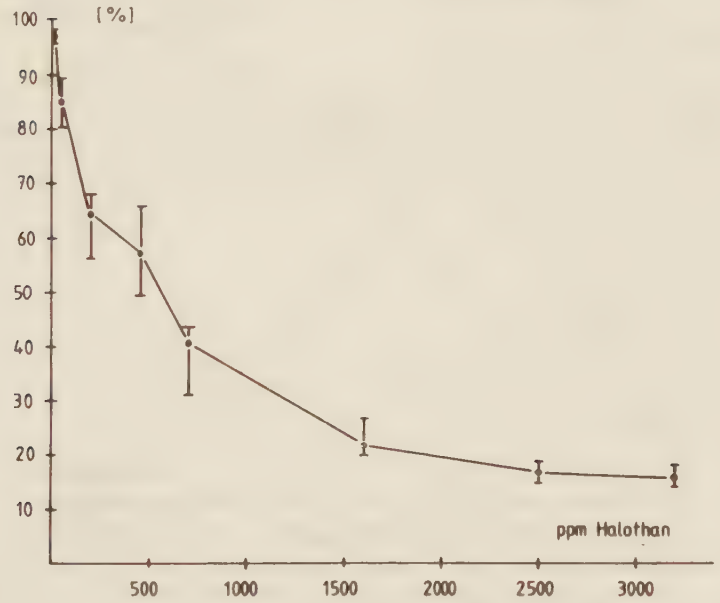


ABB. 9: Metabolisierter Anteil in % in Abhängigkeit von der angebotenen gasförmigen Halothan-Konzentration in ppm.

Abb. 9 zeigt, daß der metabolisierte Anteil für sehr hohe Konzentrationen gegen Null geht, während bei sehr niedrigen Konzentrationen, wie sie z.B. auch im OP - Bereich vorliegen, nahezu 100 % des gasförmigen Halothans umgesetzt werden.

III. HALOTHAN-AUFNAHMERATEN

Aus der Konzentrationsdifferenz prä- zu posthepatisch, dem Perfusatdurchfluß durch die Leber pro Minute und dem Lebergewicht errechneten wir die Aufnahmeraten für Halothan. Aufgetragen gegen die prähepatische Halothan-Konzentration ergibt sich folgendes Bild:

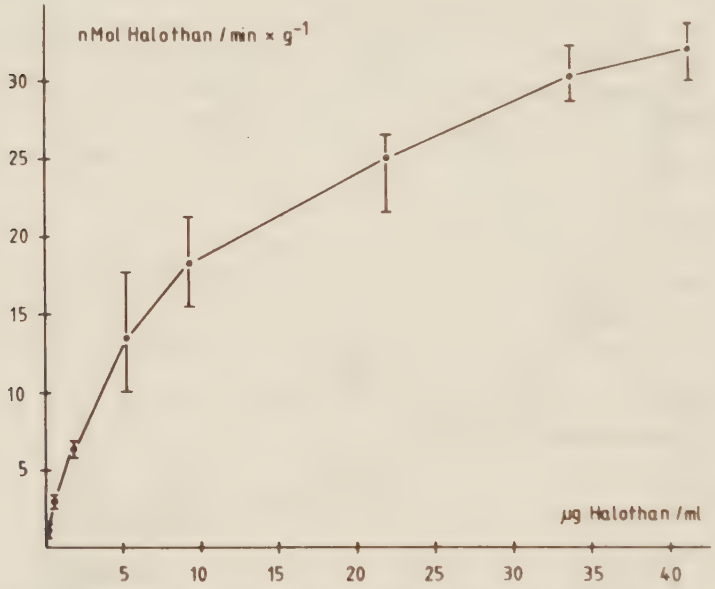


ABB. 10: Halothan-Aufnahmeraten bei verschiedenen prähepatischen Konzentrationen

Mit steigender Halothan-Konzentration steigt die Halothan-Aufnahmerate stetig an und erreicht etwa bei einem Wert von ca. 30.0 µg/ml prähepatisch ein Plateau und steigt dann nur noch minimal an. Diese 30.0 µg/ml entsprechen, wie aus Abb. 6 zu entnehmen, einer Halothan-Gas-Konzentration von 2000 ppm. Man kann somit vermuten, daß ab einer ganz bestimmten Halothan-Konzentration eine Sättigung im Enzymsystem auftritt und somit auch bei höheren Konzentrationen nur ein konstanter Anteil Halothan umgesetzt wird.

IV. LINEWEAVER - BURKE - DIAGRAMM

Um diesen Mechanismus genauer zu untersuchen, wurde ein Lineaweaver-Burke-Diagramm angefertigt. Dabei wurde auf die Abszisse der reziproke Wert der prähepatischen Konzentration und auf die Ordinate der entsprechende reziproke Wert der Halothan-Aufnahmerate aufgetragen.

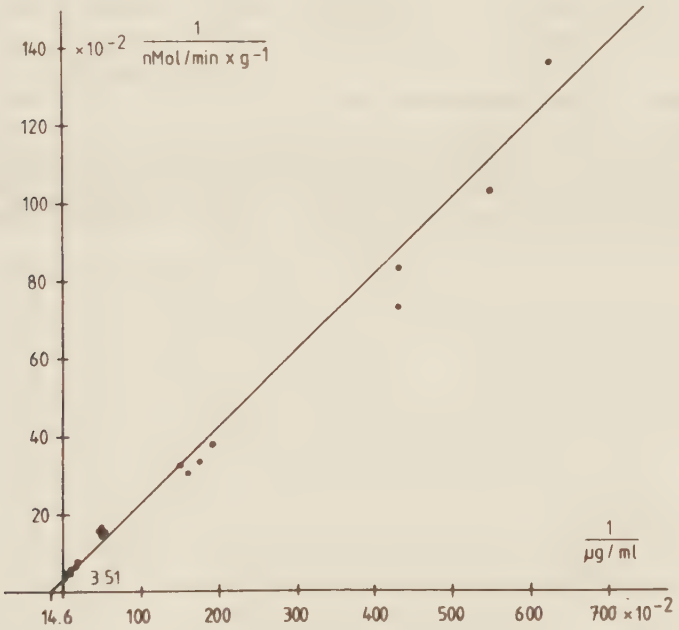


ABB. 11: Lineweaer - Burke - Diagramm

Wie aus Abb. 11 zu ersehen, besteht ein linearer Zusammenhang. Aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse erhalten wir den reziproken Wert der Michaelis-Konstanten (nach der Theorie von Michaelis und Menten), d.h. die Substratkonzentration, bei der das Enzymsystem zur Hälfte mit Substrat gesättigt ist. Wir errechneten eine prähepatische Konzentration von 6.8 µg/ml entsprechend einer

Michaelis - Konstanten von 3.46×10^{-2} Mol/Liter

Der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate gibt uns Auskunft über die maximale Reaktionsgeschwindigkeit, die erreicht ist, wenn das Enzym praktisch vollständig mit Substrat gesättigt ist. Wir errechneten:

$$\frac{1}{V}_{max} = 3.51 \times 10^{-2} \text{ (nMol/min} \times g^{-1})^{-1} \text{ entsprechend}$$

$$V_{max} = 28.5 \text{ nMol/min} \times g^{-1}$$

Die errechnete Konzentration von 6.8 µg/ml Halothan entspricht, wie aus Abb. 6 zu entnehmen, einer Gaskonzentration von 506 ppm, d.h. bei dieser Konzentration ist das Enzym halbmaximal gesättigt.

V. TFA - BILDUNG

a) In der Leber

Die TFA-Bildung in der Leber steigt mit der Zeit kontinuierlich an. Wie aus Abb. 12 ersichtlich, ist jedoch die Steigung der Geraden bei 700 ppm beträchtlich größer als bei 3200 ppm, d.h. es wird bei 700 ppm anteilsmäßig bedeutend mehr TFA pro Zeiteinheit gebildet als bei 3200 ppm. Der lineare Anstieg auch bei höheren Konzentrationen spricht jedoch dafür, daß eine Leberschädigung nicht aufgetreten sein dürfte. Um den Funktionszustand der Leber beurteilen zu können, wurden dennoch zusätzlich bei den höchsten und den niedrigsten Konzentrationen stündlich die Lebertransaminasen GOT und GPT bestimmt.

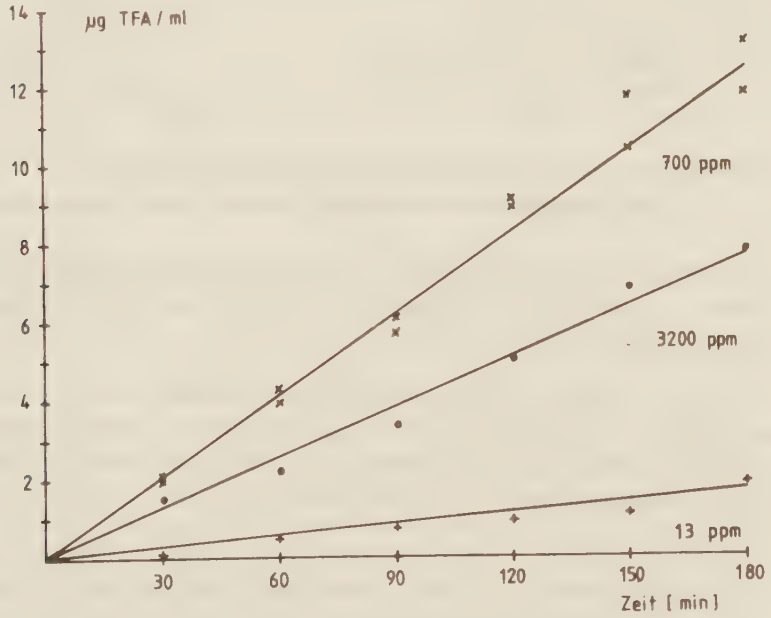


ABB. 12: Konzentrations-Zeit-Abhängigkeit der TFA-Bildung in der Leber bei 13, 700 und 3200 ppm.

Tab. 3 zufolge besteht kein signifikanter Unterschied bei den beiden Konzentrationen. Die Transaminasen steigen bei beiden Konzentrationen im Verlaufe der drei Stunden kontinuierlich an. Dieser Anstieg beruht sicherlich darauf, daß sich die Leber doch nicht in einem völligen physiologischen Zustand befindet. Sie ist z.B. vollständig von der Blutversorgung durch die A. hepatica abgetrennt.

Zeit	13 ppm		3200 ppm	
(min)	GOT	GPT	GOT	GPT
0'	3.38 ± 0.52	1.90 ± 0.31	3.80 ± 1.12	2.35 ± 1.40
60'	6.94 ± 0.30	3.81 ± 0.22	6.98 ± 1.23	3.26 ± 0.41
120'	12.89 ± 2.17	4.35 ± 0.50	12.73 ± 1.81	4.26 ± 0.74
180'	21.17 ± 2.94	5.62 ± 1.97	22.74 ± 5.08	8.15 ± 2.54

TAB. 3: GOT- und GPT-Bestimmung bei 13 und 3200 ppm
Mittelwerte mit Standardabweichung aus 4 Versuchen.

Um eine vergleichbare Aussage über die TFA-Bildung machen zu können, wurde die TFA-Bildungsrate in nMol/min x g^{-1} Leberfeuchtgewicht errechnet.

Die TFA-Bildung pro Minute und pro Gramm Leber steigt stetig an (Abb. 13), erreicht bei 700 ppm ein Maximum von 9.53 nMol/min x g^{-1} und fällt dann erstaunlicherweise bei höheren Halothan-Konzentrationen wieder auf einen Wert von 3.46 nMol/min x g^{-1} ab.

Ein interessantes Bild erhält man, wenn man die TFA-Bildungsrate und die Halothan-Aufnahmerate vergleicht. In Tab. 4 sind beide Werte einander gegenüber gestellt und die gebildete Menge an TFA in Prozent des aufgenommenen Halothans wiedergegeben.

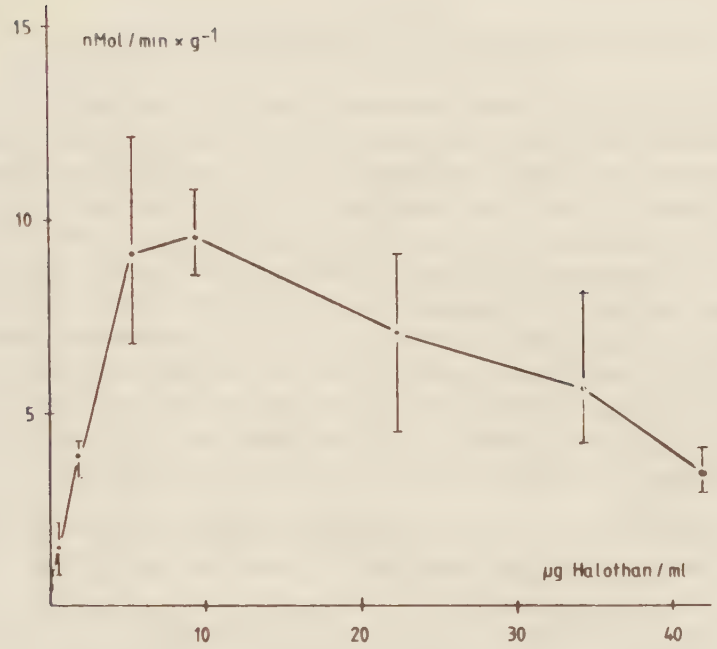


ABB. 13: TFA-Bildungsraten in nMol/min x g^{-1} bei verschiedenen Halothan-Perfusat-Konzentrationen in µg/ml

Perfusat-konzentration ug/ml	Hal.-Aufnahmerate nMol/minxg^{-1}	TFA-Bildungsrate nMol/minxg^{-1}	%
0.20	1.07 ± 0.27	0.76 ± 0.23	71.02
0.60	3.02 ± 0.28	1.54 ± 0.60	50.99
1.92	6.43 ± 0.57	3.95 ± 0.41	61.43
5.24	13.56 ± 3.35	9.41 ± 5.61	69.39
9.34	18.27 ± 2.73	9.53 ± 1.21	52.16
22.16	25.02 ± 3.20	7.10 ± 2.60	28.37
33.85	30.36 ± 1.53	5.65 ± 1.73	18.61
41.37	32.02 ± 2.24	3.46 ± 0.50	10.80

TAB. 4: Vergleich von Halothan-Aufnahmeraten und TFA-Bildungsraten bei verschiedenen Perfusat-Konzentrationen mit ihren Standardabweichungen

b) Bestimmung der Rest-TFA im Lebergewebe

Als Erklärung für diese Diskrepanz zwischen Halothan-Aufnahme und TFA-Bildung kam die Bindung von Trifluoressigsäure in großen Mengen an Leberbestandteile in Frage. Deshalb bestimmten wir zusätzlich auch die Menge an TFA im Lebergewebe. Es zeigte sich, daß zwischen 10 % und 25 % der im Blut gefundene TFA sich im Lebergewebe befanden. Dabei ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsserien bei unterschiedlichen Konzentrationen. Die im Lebergewebe gefundene TFA-Menge reicht jedoch nicht aus, um die Diskrepanz zwischen Halothan-Aufnahme und TFA-Bildung zu erklären. Berücksichtigt man die Leber-TFA bei der Berechnung der TFA-Bildungsraten, so ändern sich die Werte nur geringfügig.

In Tabelle 5 sind die neu errechneten Werte der TFA-Bildungsrate den bisher errechneten Werten gegenüber gestellt.

Halothan-konzentration (Gasphase) ppm	TFA - Bildungsraten (nMol/min x g^{-1})	
	ohne Lebergewebe-TFA	mit Lebergewebe-TFA
13	0.76 ± 0.23	0.86 ± 0.31
50	1.54 ± 0.60	1.98 ± 0.68
200	3.95 ± 0.41	5.03 ± 0.34
450	9.41 ± 5.16	10.75 ± 4.66
700	9.53 ± 1.21	11.31 ± 1.38
1800	7.10 ± 2.60	8.55 ± 2.80
2500	5.65 ± 1.73	7.11 ± 1.93
3200	3.46 ± 0.50	4.03 ± 0.71

TAB. 5: Korrigierte Werte der TFA-Bildung mit Berücksichtigung der Rest-TFA im Lebergewebe

Auch graphisch zeigte sich nur eine geringfügige Abweichung von Abb. 13.

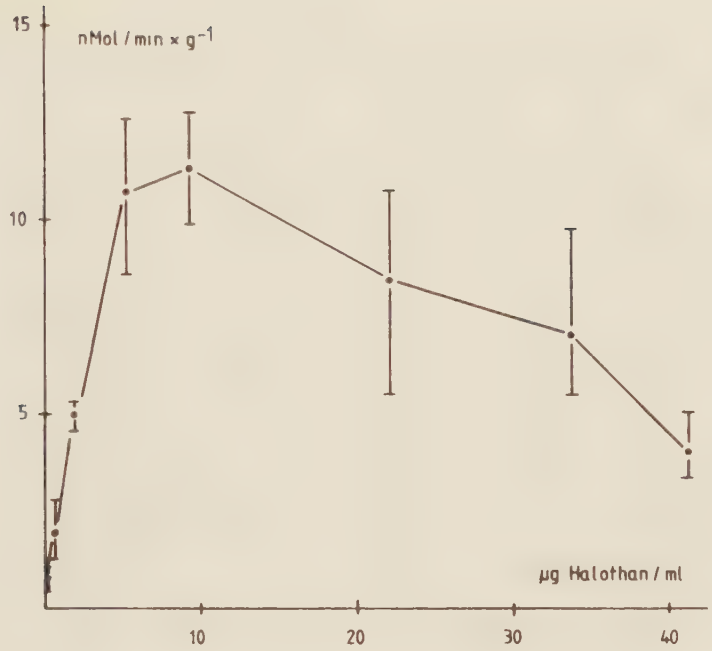


ABB. 14: TFA-Bildungsraten mit Berücksichtigung der Rest-TFA im Lebergewebe.

c) TFA-Bildung in der Galle

Insgesamt wurden durchschnittlich 1.05 ml Galle pro 180 Minuten gebildet. Sie wurden in einzelnen Fraktionen nach jeweils 30 Minuten gesammelt und anschließend auf die darin befindliche Menge an TFA untersucht. Dabei ergaben sich zum Teil recht hohe TFA-Konzentrationen, die jedoch wegen der kleinen Volumina nur eine geringe Anteilsmenge an TFA darstellten. Die pro Versuchsdauer gebildete TFA-Menge lag in allen Versuchsserien im Mittel unter 0.5 % der im Blut befindlichen TFA. Tabelle 6 stellt nochmals die prozentualen Werte der TFA

dar, die pro Versuchsserie im Lebergewebe und in der Galle gefunden wurden, gemessen an der insgesamt gebildeten TFA im Blut.

Angebote Konzentration (ppm)	TFA im Lebergewebe (4)	TFA in der Galle (%)
13	13.59	0
50	25.52	0.410
200	18.76	0.386
450	13.73	0.227
700	14.60	0.297
1800	18.14	0.475
2500	18.85	0.347
3200	10.78	0.464

TAB. 6: TFA im Lebergewebe und in der Galle in Prozent der TFA im Blut bei verschiedenen Halothan-Konzentrationen.

Die aufgezeigte Diskrepanz zwischen Halothan-Aufnahmerate und TFA-Bildungsrate wird noch verdeutlicht, wenn man beide Größen in ein Koordinatensystem einträgt (Abb. 15).

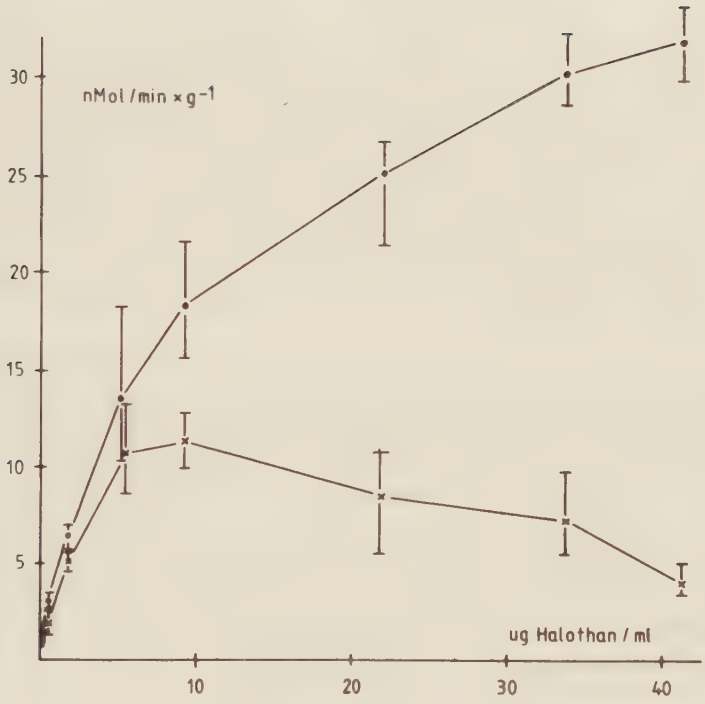


ABB. 15: Vergleich zwischen Halothan-Aufnahmerate und TFA-Bildungsrate bei verschiedenen Halothan-Perfusatkonzentrationen

o ——— o Halothan-Aufnahmerate (nMol/min x g^{-1})

x ——— x TFA-Bildungsrate (nMol/min x g^{-1})

VI. ABGEDAMPFTE HALOTHANMENGE

Da es sich bei unserem System um ein offenes System handelt und somit auch Halothan über die Leberoberfläche abdampfte, war zusätzlich noch wichtig, diese Menge zu bestimmen. Dazu verbrachten wir die isolierte Leber mit den zu- und abführenden Kathetern in einen luftdicht abgeschlossenen Exsikkator mit einem Volumen von 5 Litern. Nach 180 Minuten Versuchsdauer wurde jeweils mit einer Gasspritze eine Luftprobe am Boden und eine am Deckel des Exsikkators entnommen, und gaschromatographisch die Gaskonzentration bestimmt.

Wir bestimmten einmal die Konzentration bei einem Halothan-Angebot von 30 ppm und zum andern bei einem Angebot von ca. 3400 ppm. Mit Hilfe von Abb. 6 läßt sich bei bekanntem Halothan-Angebot in ppm die prähepatische Konzentration bestimmen. Daraus kann man wiederum unter Verwendung des Perfusatdurchflusses durch die Leber und der Gesamtdauer des Versuches (= 180 Minuten) die Gesamtmenge an Halothan errechnen, die während der gesamten Versuchsdauer durch die Leber transportiert wird. Die abgedampfte Menge an Halothan läßt sich so in Prozent der Gesamtmenge bestimmen.

Halothan-angebot (ppm)	Gesamthalothanmenge während 180 Minuten (µg)	Abgedampfte Halothanmenge (µg)	%
30	180	0.5	0.25
3400	25344	23.6	0.093

TAB. 7: Halothanmenge, die während des Versuches über die Leberoberfläche abdampft.

D I S K U S S I O N

Wie unsere Ergebnisse zeigen, besteht ein konzentrationsabhängiger Metabolismus des Halothans. Während bei sehr geringen Halothan-Dampf-Konzentrationen, wie sie z.B. im Operationssaal herrschen, nahezu 100 % des Halothans metabolisiert werden, beträgt der metabolisierte Anteil bei 3200 ppm Halothan-Angebot nur noch rund 16.5 %.

SAWYER et al. kam 1971 bei Untersuchungen an Miniaturschweinen zu ähnlichen Ergebnissen (siehe Abb. 16).

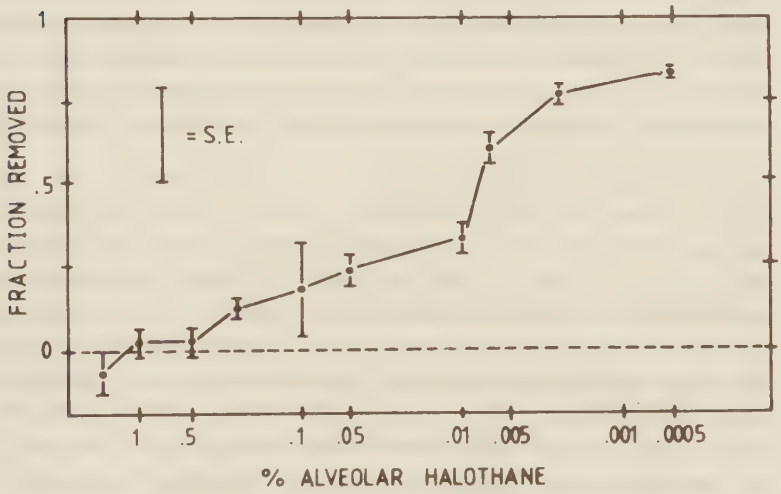


ABB. 16: Vergleich zwischen der von der Leber entfernten Halothanmenge und einer berechneten Alveolarkonzentration (nach SAWYER et al., 1971)

Sie begannen ihre Versuchsserie mit einer einstündigen alveolaren Halothan-Konzentration von 1.0 - 1.5 Vol.-% und anschließend setzten sie die Konzentration kontinuierlich her-

ab. Sie machten dabei die Feststellung, daß bei einer alveolaren Konzentration unter 0.0026 Vol.-% das Halothan im Blut nahezu vollständig von der Leber entfernt wird. In anaesthetischen Konzentrationen wurde keine signifikante Entfernung des Halothans aus dem Blut beobachtet. Abb. 16 zeigt SAWYERs Ergebnisse.

Daß der metabolisierte Anteil bei niedrigen Halothan-Konzentrationen bedeutend höher liegt als bei hohen Konzentrationen, konnte auch schon in den Inhalationsversuchen von DALLMEIER (1977) gezeigt werden. Er ermittelte bei Halothan-Dampf-Konzentrationen im Bereich zwischen 1 - 100 ppm, d.h. jenen Konzentrationen, wie sie auch im Operationssaal teilweise erreicht werden, einen metabolisierten Anteil von etwa 60 %. Bestimmt wurde dieser Wert aus der TFA-Bildung im Blut und der TFA-Ausscheidung im Urin. Auf Grund dieser Ergebnisse liegt es nahe, daß unsere Resultate aus der isoliert perfundierten Rattenleber grundsätzlich, d.h. in der Tendenz auf die menschliche Leber übertragbar sind.

Die Aufnahmeraten des Halothans, d.h. die Menge an Halothan, die pro Minute und pro Gramm Lebergewebe aufgenommen wird, steigt, wie aus Abb. 10 zu ersehen, bei hohen Halothan-Konzentrationen nur noch sehr langsam an. Um diesen Mechanismus besser zu erfassen, wurde ein Lineweaver-Burke-Diagramm angefertigt (Abb. 11). Da sich daraus ein linearer Zusammenhang zwischen prähepatischer Halothan-Konzentration und Halothan-Aufnahme ergab, bestätigte sich unsere Vermutung, daß es sich bei den gefundenen Ergebnissen um eine Enzymsättigung handelt. Mit anderen Worten, ab einer bestimmten Halothan-Blut-Konzentration ist das Enzymsystem der Leber für den Halothanabbau voll abgesättigt und folglich wird bei hohen Konzentrationen ein geringerer Halothan-Anteil metabolisiert als bei niedrigen Konzentrationen. Aus dem Lineweaver-Burke-Diagramm errechneten wir eine Michalis-Konstante von 3.46×10^{-2} Mol/Liter und dies entspricht einer Halothan-Konzentration von 6.8 µg/ml Blut entsprechend 506 ppm in der Gasphase. Die errechnete maximale Reaktionsgeschwindigkeit V_{max} von 28.5 nMol/

min x g^{-1} deckt sich mit den Werten, die wir in der Versuchsreihe bei 3200 ppm erhalten haben. Es ist uns jedoch nicht möglich, eine Aussage über den betroffenen Teilschritt des enzymatischen Abbaus zu machen, sondern wir können nur das Enzym des geschwindigkeitsbestimmenden Teilschrittes etwas näher charakterisieren.

Welche Auswirkungen hat dies nun auf den metabolisierten Anteil? Man kann mit einiger Sicherheit sagen, daß bei einer Konzentration von 5000 - 6000 ppm das Enzym praktisch vollständig mit Substrat abgesättigt ist. Mit anderen Worten, ab einer bestimmten Halothan-Konzentration, nämlich der Sättigungskonzentration, wird die prä- zu posthepatische Konzentrationsdifferenz anteilsmäßig nicht mehr weiter ansteigen. Die prähepatische Konzentration nimmt jedoch wegen des linearen Zusammenhangs mit der angebotenen Halothan-Konzentration (siehe Abb. 6) ständig weiter zu, so daß auch bei hohen Konzentrationen der metabolisierte Anteil unverändert bleibt.

Neben der Metabolisierung bestimmten wir auch die gebildete Menge der TFA im Blut. Die TFA-Bildung stieg während der Versuchsdauer linear an. Jedoch ergab sich eine Diskrepanz zwischen der Halothan-Aufnahme und der TFA-Bildung, mit anderen Worten, es wird weniger TFA gebildet als Halothan aufgenommen wird. Darüber hinaus war überraschenderweise die TFA-Bildung bei 700 ppm bedeutend größer als bei 3200 ppm. Eine starke Leberschädigung dürfte jedoch auch bei hohen Konzentrationen nicht aufgetreten sein, da dann die TFA-Konzentration über die Zeit nicht linear ansteigen würde. Bestätigt wurde dies auch durch die Transaminasenbestimmung von GOT und GPT bei der höchsten und bei der niedrigsten Konzentration, wobei wir keinen signifikanten Unterschied feststellen konnten. Unsere Vermutung, daß Trifluoressigsäure noch an Leberbestandteile gebunden ist, bestätigte sich jedoch nicht. Wir fanden bei der Aufarbeitung der Lebern nur 10 - 25 % der Gesamt-TFA des Blutes in der Leber wieder. Auch die Bestimmung der TFA-Ausscheidung mit der Galle gab uns keine Erklärung für die Diskrepanz zwischen TFA-Bildung und Halothan-Aufnah-

me. Die TFA-Ausscheidung mit der Galle ergab nur ca. 0.5 % der Gesamt-TFA. Eventuell wurde Halothan auch direkt über die Galle ausgeschieden, dies wurde jedoch von uns nicht untersucht. TOPHAM und LONGSHAW (1972) stellten in einer Studie über die Verteilung und Ausscheidung von Halothan-Metaboliten bei der Ratte und beim Hund fest, daß ein Teil des Halothans über die Galle unverändert eliminiert wird.

Möglicherweise wurden aber während des Versuches auch noch andere Metaboliten gebildet, die von unserer Analytik nicht mit erfaßt wurden. Die isoliert perfundierte Rattenleber befindet sich nicht völlig in einem physiologischen Zustand, da sie ja unter anderem von der A. hepatica vollständig abgetrennt ist. Aus diesem Grunde könnte durch eine leichte hypoxische Stoffwechsellage, besonders gegen Ende der Versuchszeit, Metabolite wie das N-Acetyl-S-(2-bromo-2-chloro-1,1-difluoroaethyl)-cystein gebildet werden (COHEN et al., 1975). Untersuchungen von BIEBUYCK et al. (1971) an der isoliert perfundierten Rattenleber ergaben unter anderem, daß bei Halothan-Konzentrationen von 2.5 Vol.-% in der Gasphase die Sauerstoffaufnahme in der Leber von fetten sowie von mageren Ratten gehemmt wird. Auch dies könnte eine eventuell vorhandene hypoxische Stoffwechsellage erklären. Um diese Hypothese jedoch zu bestätigen, bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Was bedeuten unsere Ergebnisse nun für den arbeitsmedizinischen Sektor? Die hierfür relevanten Konzentrationen liegen im Bereich von 0.1 - 50 ppm, das heißt, also in einem Bereich, in dem der metabolisierte Anteil nahezu 100 % beträgt. Aus der gebildeten TFA-Menge kann man so auf die Halothan-Belastung schließen und umgekehrt kann man bei einer bestimmten Halothan-Belastung auf die Menge an gebildeter TFA schließen.

Aus unseren Ergebnissen wird deutlich, wie wichtig es ist Halothan-Dämpfe aus dem Operationssaal so weit wie möglich zu entfernen. Bei dem Anaesthesisten, der ständig einer niedrigen Halothan-Dampf-Konzentration ausgesetzt ist, bei der es nahezu zu einer vollständigen Metabolisierung kommt, tritt eine Kumulation von Halothan-Metaboliten auf. Dies beweisen

auch die Inhalationsversuche von DALLMEIER (1977).

Um die toxischen Nebenwirkungen beim Anaesthesie- und Operationssaalpersonal zu vermeiden, bleibt im Augenblick nur die Möglichkeit der konsequenten Entfernung dieser flüchtigen Substanzen aus dem Operationstrakt. In einem Artikel der Medical Tribune vom November 1977 berichtet GREUTER auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin von einer Erhebung, die in der Schweiz durchgeführt wurde. Danach entfallen 23 % der summierten Operationszeit auf schlecht ventilierte Räume. Eine Absaugung nach außen erfolgt nur in 18 % der Arbeitszeit, Halothanfilter werden nur 7 % verwendet. 30 % der Operationszeit entfallen auf offene bzw. halboffene Narkoseverfahren, 24 % auf halbgeschlossene bei Spontanatmung und 46 % auf solche mit künstlicher Beatmung. Um die Narkose-Gas-Konzentration in der Raumluft zu reduzieren, nennt er folgende Möglichkeiten: Verwendung von Halothan-Filtern, die eine Gasreduktion um 20 - 60 % bringen; gezielte Ableitung der Narkosegase ins Freie, was eine Elimination aller Gaskomponenten zu 30 - 90 % ermöglicht. Weiterhin kann mit einer modernen, klimatisierten Entlüftungsanlage mit zehnfacher Umwälzung der Raumluft eine Verringerung um 50 - 80 % erzielt werden. Die Verwendung des halbgeschlossenen Systems mit teilweiser Rückführung der Atemluft kann eine weitere Reduktion der Gaskonzentration bringen. HÖVENER et al. (1976) kamen zu dem Schluß, daß die Ableitung der Narkose-Gase wirksamer ist als die Filterung.

Der jahrelangen Forderung nach Aufstellung eines MAK-Wertes für Halothan wurde nun im Frühjahr 1978 endlich entsprochen. Seitdem existiert für Halothan ein vorgeschriebener MAK-Wert von 5 ppm, entsprechend 40 mg/m^3.

ZUSAMMENFASSUNG

Am Modell der isoliert perfundierten Rattenleber wird die konzentrationsabhängige Metabolisierung von Halothan untersucht. Das Prinzip dieses Modells basiert auf der Grundlage eines vom tierischen Kreislauf abgetrennten Organes. Dieses wird an einen künstlichen Kreislauf angeschlossen, und durch eine ausreichende Sauerstoffaufsättigung der Perfusatflüssigkeit wird für die notwendige Ernährung des isolierten Organes gesorgt. Als Perfusatlösung dienten gewaschene Rindererythrocyten unter Zusatz eine Nährlösung. Es ist somit möglich, der Leber kontinuierlich zusammen mit dem Sauerstoff verschiedene Konzentrationen eines Halothan-Gas-Gemisches zuzusetzen. Im künstlichen Kreislauf stellt sich innerhalb relativer kurzer Zeit (ca. 30 Minuten) ein "Steady-State" ein, das heißt die Halothan-Konzentration im Perfusat vor der Leber und nach der Leber bleiben für die weitere Versuchsdauer konstant. Aus der Konzentrationsdifferenz prä- zu posthepatisch kann man somit die Metabolisierungsrate bestimmen.

Insgesamt wurde ein Konzentrationsbereich von 13 ppm bis 3200 ppm untersucht, im einzelnen folgende Konzentrationen: 13, 50, 200, 450, 700, 1600, 2500 und 3200 ppm. Pro Konzentration wurde eine Serie von 4 Versuchen durchgeführt. Die gewünschte Halothan-Konzentration sowie die gebildete TFA-Menge im Perfusat wurden gaschromatographisch bestimmt. Um eine ausreichende Funktion der Leber zu sichern, wurde bei jedem Versuch stündlich der Laktat-Pyruvat-Quotient errechnet, zusätzlich bei der niedrigsten und bei der höchsten untersuchten Halothan-Konzentration die Transaminasen GOT und GPT.

Als wesentliches Ergebnis stellt sich heraus, daß Halothan in hohen Konzentrationsbereichen seinen eigenen Metabolismus hemmt. Bei niedrigsten Halothan-Blut-Konzentrationen beträgt der metabolisierte Anteil nahezu 100 %, bei der höchsten untersuchten Konzentration liegt er nur noch bei 16.5 %. Durch Anfertigen eines Lineweaver-Burke-Diagramms, welches einen linearen Kurvenverlauf ergab, läßt sich zeigen, daß bei der Metabolisierung von Halothan eine Enzymsättigung einsetzt. Bei einer Gas-Konzen-

tration von ca. 500 ppm ist das Enzym des Halothanabbaus halbmaximal gesättigt. Eine Aussage über den betroffenen Teilschritt des enzymatischen Abbaus ist jedoch nicht möglich.

Die Bildung von Trifluoressigsäure (TFA) als Hauptmetabolit des Halothanabbaus steigt während der Versuchsdauer lineare an, wobei jedoch auffällt, daß bei hohen Halothan-Konzentrationen bedeutend weniger TFA gebildet wird als bei niedrigen Konzentrationen. So erschienen z.B. bei einer Halothan-Perfusat-Konzentration von 0.20 µg/ml rund 71 % des aufgenommenen Halothans als TFA. Bei einer Konzentration von 41.3 µg/ml lag der Wert nur noch bei 10.8 %. Um diese Diskrepanz aufzuklären, bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Die TFA-Ausscheidung mit der Galle, oder die Bindung von TFA an Leberbestandteile lag insgesamt relativ niedrig, so daß dies nicht als Erklärung für dieses Phänomen in Betracht kommt.

LITERATURVERZEICHNIS

Summary of the National Halothane Study
Jama, 197, 775-788 (1966)

AACH, R., WESSLER St., AVIOLI L.V.
Halothane and Liver Failure
Jama, 211, 2145-2147 (1970)

AIRAKSINEN M.M.
Toxicity of the Metabolites of Halothane.
In: Progress in Anaesthesiology, p. 326
Excerpta Medica Foundations (1970)

ATALLAH M.M., GEDDES I.C.
Halothane Metabolism during clinical Anaesthesia
Brit. Journal of Anaesth., 44, 623, (1972)

ATALLAH M.M., GEDDES I.C.
Metabolism of Halothane during and after Anaesthesia in Man
Brit. Journal of Anaesth., 45, 464-469 (1973)

BADEN J.M., BRINKENHOFF M., WHARTON R.S., HITT B.A.,
SIMMON V.F., MAZZE R.I.
Mutagenicity of Volatile Anesthetics: Halothane
Anesthesiology, 45, 311-318 (1976)

BELFRAGE S., AHLGREN I., AXELSON S.
Halothane Hepatitis in an Anaesthesist
Lancet, 1466-1467 (1966)

BERTHELOT P.
Mechanism and Prediction of Drug-induced Liver Disease
Gut., 14, 332-339 (1973)

BIEBUYCK J.F., LUND P., KREBS H.A.
The Effects of Halothane on Glycolysis and Biosynthetic
Processes of the Isolated Perfused Rat Liver.
Biochem. Journal, 128, 711-720 (1971)

BRACHET-LIERMAIN A., VARENE N., LEPINE G., GILLARDEAU G.
Taux d'imprégnation par l'Halothane du Personnel des Blocs opératoire pédiatriques.
Therapie, 32, 585-601 (1977)

BROWN B.R., SIPES I.G., BAKER R.K.
Halothane Hepatoxicity and the Reduced Derivative 1,1,1-Trifluoro-2-chlorethane
Environ. Health Perspect., 21, 185-188 (1977)

BRUCE D.L., EIDE K.A., LINDE H.W., ECKENHOFF J.E.
"Causes of Death among Anesthesiologists: A 20 Year Survey".
Anesthesiology, 29, 565-569 (1968)

CASCORBI H.F., BLAKE D.A., HELRICH M.
Differences in the Biotransformation of Halothane in Man.
Anesthesiology, 32, 119-123 (1970)

CASCORBI H.F., VESELL E.S., BLAKE D.A., HELRICH M.
Genetic and Environmental Influence on Halothane-Metabolism in Twins.
Clin. Pharmacol. and Therap., 12, 50-55 (1971)

CASCORBI H.F.
Factors causing Differences in Halothane-Biotransformation.
Int. Anesthesiology Clin., 12, 63-71 (1974)

CLAUBERG G.
Untersuchungen über den Einfluß von Inhalationsnarkose und Operation auf die Leberfunktion.
Teil I und II
Anaesthesist, 19, 324-328 (1970)

COHEN E.N.
Metabolism of Halothane- $2^{14}C$ in the Mouse.
Anaesthesiology, 31, 560-565 (1969)

COHEN E.N., BELLVILLE J.W., BROWN B.W.
Anesthesia, Pregnancy and Miscarriage:
A Study of Operating Room Nurces and Anesthesists.
Anesthesiology, 35, 343-347 (1971)

COHEN E.N., BROWN B.W., BRUCE D.L., CASCORBI H.F.,
CORBETT T.H., JONES T.W., WHITCHER C.E.
Occupational Disease among Operating Room Personnel:
A National Study.
Anesthesiology, 41, 321-340 (1974)

COHEN E.N., TRUDELL J.R., EDMUNDS H.N., WATSON E.
Urinary Metabolites of Halothane in Man.
Anesthesiology, 43, 392-401 (1975)

CORBETT T.H., BALL G.W.
Chronic Exposure to Methoxy-flurane: a Possible Occupational
Hazard to Anesthesiologists.
Anesthesiology, 34, 532 (1971)

DALLMEIER E., HENSCHLER D.
Arch. Pharmacol., 297 R 20 (1977)

DESBAUMES E., DUCEL G., IMHOFF C., ROUGE J.C.
Danger de l'Exposition chronique a l'Halothane pour le
Personnel d-un Bloc opératoire.
Ann. Anaesth. Franc., XVI, 437-445 (1975)

DUNCAN W., RAVENTOS J.
The Pharmakokinetics of Halothane (Fluothane) Anaesthesia.
Brit. Jour. Anaesth., 31, 302-315 (1959)

FISCHER W., SCHOLLER K.L.
Biotransformation von Halothan.
Gegenwärtiger Stand von Forschung und Diskussion
Med. Klinik, 72, 1959-1965 (1977)

GOSTOMZYK J.G., EISELE G., AHNEFELD F.W.
Chronische Narkosebelastung des Anaesthesiepersonals im Operationssaal.
Anaesthesist, 22, 469-474 (1973)

GÖTTEL P., SUNDELL L.
Anaesthesists' Exposure to Halothane.
Lancet, 424 (1972)

GRAVENSTEIN J.S.
Medikamente in der Anaesthesie.
In: Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie
Urban u. Schwarzenberg, S. 317, (1971)

GREUTER W.F.
Op-Personal
Medical Tribune, 45 (1977)

HOLADAY D.A.
Absorption, Biotransformation and Storage of Halothane.
Environ. Health Perspect., 21, 165-169 (1977)

HALLEN B., EHRNER-SAMUEL H., THOMASON M.
Measurements of Halothane in the Atmosphere of Operating Theatre and in Expired Air and Blood of Personnel during Rourine Anaesthetic Work.
Acta Anaesth. Scand., 14, 17 (1970)

HANF D.
Der Halothangehalt im Blut von Patienten und der Ausatemluft von Anaesthesisten.
Dissertation, Med. Hochschule Lübeck (1974)

HEMS R., ROSS B.D., BERRY M.N., KREBS H.A.
Gluconeogenesis in the Perfused Rat Liver.
Biochem. Journal, 101, 284-296 (1966)

HÖVENER B., LINK J.
Operationssaalkonzentrationen von Halothan und ihre Beeinflussung durch verschiedene Ableitungen.
Anaesthesist, 25, 68-71 (1976)

HOFMANN A., NEUFELDER M.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur gewebetoxikologischen Beurteilung von 2-Chloräthylisocyanat.
Arch. Toxicol., 29, 73-84 (1972)

INMAN W., MUSHIN W.
Jaundice after Repeated Exposure to Halothane: An Analysis of Reports of the Committee on Safety of Medicines.
Brit. Med. Journal, I, 5-10 (1974)

JACKSON S.H.
The Metabolic Effect of Halothane on Mammalian Hepatoma Cells in Vitro:
II. Inhibition of DNS-Synthesis
Anesthesiology, 39, 405-409 (1973)

JOHNSTONE R.E., ANDREWS R., BRUMMUND W.
Bromide Concentrations of Anesthesists.
Anesthesiology, 43, 128 (1975)

KARASHIMA D., HIROKATA Y., SHIGEMATSU A., FURUKAWA T.
The in Vitro Metabolism of Halothane by Hepatic Nicrosomal Cytochrome P-450.
J. Pharmacol- exp. Ther., 203, 409-415 (1977)

KNIGHTS K.M., ARMSTRONG R.F., STRUNIN L.
Halothane 1 ppm - Is it Practical?
Brit. J. Anaesth., 48, 815-816 (1976)

LARSON C.P., EGER E.J., SEVERINGHAUS J.W.
The Solubility of Halothane in Blood and Tissue Homogenates.
Anesthesiology, 23, 349 (1962)

LENCZ L., NEMES C.
Besteht für Anaesthesisten eine kürzere Lebenserwartung als bei anderen Ärzten?
Medical Tribune, 12, 2 (1971)

LINDE H.W., BRUCE D.L.
Occupational Exposure of Anesthesists to Halothane, Nitrous oxide and Radiation.
Anesthesiology, 30, 363-368 (1969)

MANSUY D., NASTAINCZYK W., ULLRICH V.
The Mechanism of Halothane Binding to Microsomal Cytochrome P-450.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharm., 285, 315-324 (1974)

MILLER L.L.
Technique of Isolated Rat Liver Perfusion.
In: Isolated Liver Perfusion and its Application.
J. BARTOSEK, A. GUAITANI u. L.L. MILLER (ed.)
Raven Press, pp. 11-52 (1973)

MORLEY T.S.
Halothane: Clinical Considerations
Int. Anesthesiol. Clin. 12, 73-84 (1974)

NASTAINCZYK W., ULLRICH V., SIES H.
Effects of Oxygen Concentrations on the Reaction of Halothane with Cytochrome P-450 in Liver Microsomes and Isolated Perfused Rat Liver.
Biochem. Pharmacol., 27, 387-392 (1978)

NIKKI P., PFAEFFLI P., AHLMANN K.
End-tidal and Blood Halothane and Nitrous Oxide in Surgical Personnel.
Lancet, 2, 490-491 (1972)

PHAROAH P.O.D., ALBERMAN E., DOYLE P.
Outcome of Pregnancy among Women in Anesthetic Practice.
Lancet, 1, 34-36 (1977)

PIRSCHEL S.
Unterscuhungen über die chronische Narkosebelastung des Anaesthesie - und Operationspersonals unter besonderer Berücksichtigung des Halothans.
Dissertation, Universität Tübingen, (1977)

PRATILAS V., PRATILA M.G., BRAMIS J., SMITH H.
The Hepatoprotective Effect of Oxygen during Halothane Anesthesia.
Anesth. Analog., 57(4), 481-485 (1978)

RAO S.
A Study of the Mechanism of Halothane-induced Liver Necrosis. Role of Covalent Binding of Halothane Metabolites to Liver Proteins in the Rat.
J. of Med. Chem., 20, 262-265 (1977)

REHDER K., FROBES J., ALTER H., HESSLER O., STIER A.
Halothane Biotransformation in Man: A Quantitative Study
Anesthesiology, 28, 711-715 (1967)

REYNOLDS E.S., MOSLEN M.T.
Liver Injury Following Halothane Anesthesia in Phenobarbital-Pretreated Rats.
Biochem. Pharmacol., 23, 189-194 (1974)

REYNOLDS E.S., MOSLEN M.T.
Halothane Hepatotoxicity: Enhancement by Polychlorinated Biphenyl Pretreatment.
Anesthesiology, 47, 19-27 (1977)

RIETBROCK I.
Biotransformation von Inhalationsanaesthetika und ihre Bedeutung für klinische Nebenwirkungen.
Anaesthesist, 24, 381-391 (1975)

RITTMEYER P., SCHILLING K.
Befunde nach isolierter Perfusion der Leber mit Halothan.
Anaesthesist, 15, 157-160 (1966)

ROSENBERG H., KALLIO H.
Operating-theatre Gas Pollution and Chromosomes.
Lancet, 2 (8035) 452-453 (1977)

ROSENKRANZ H.S.
Mutagenicity of Halogenated Alkanes and their Derivatives.
Environ. Health Perspect., 21, 79-84 (1977)

SAWYER D.C., EGER E.I., BAHLMAN S.H., CULLEN B.F., IMPELMAN D.
Concentration Dependence of Hepatic Halothane Metabolism.
Anesthesiology, 34, 230-234 (1971)

SCHIMASSEK H., HELMS J., KUNZ W., STIER A.
Lebervergrößerung unter Trifluoressigsäure, Spaltprodukt des Halothan.
Naunyn Schmiedb. Arch. Pharm. Exp. Path., 255, 67 (1966)

SCHULZE H.H., KÄSTNER D., LANGE P.
Zur Frage der chronischen Toxizität von Halothankonzentrationen in der Operationssaalluft.
Anaesthesist, 11, 378-381 (1969)

SCHULZE H.H., KÄSTNER D.
Aktuelle Probleme und Stellungsnahme zur Frage der chronischen Leberschädigung durch Halothan beim Anaesthesiepersonal.
Anaesthesist, 22, 47-50 (1972)

SHARPSTONE P., MEDLEY D.R.K., WILLIAMS R.
Halothane Hepatitis - A Preventabel Disease?
Brit. Med. J., 1, 448-450 (1971)

SIMPSON B.R., STRUNIN L., WALTON B.
"The Halothane Dilemma: A Case for the Defence"
Brit. Med. J., 4, 96-100 (1971)

STIER A.
Der Stoffwechsel des Halothans und seine pharmakologisch-toxikologische Bedeutung.
Habilitationsschrift, Universität Würzburg (1965)

STIER A.
Stoffwechsel des Halothan
In: Drug and Liver
Gerok und Sickinger, pp. 297-299 (1975)

TOPHAM J.C., LONGSHAW S.
Studies with Halothane.
I. The Distribution and Excretion of Halothane Metabolites in Animals.
Anesthesiology, 37, 311-323 (1972)

VAISMAN A.J.
Working Conditions in Surgery and their Effect on the Health of Anesthesists.
Eksp. Khir., 3, 44 (1967)

VAN DYKE R.A., WOOD C.L.
Binding of Radioactivity from ^{14}C-labeled Halothane in Isolated Perfused Rat Livers.
Anesthesiology, 38, 328-332 (1973)

VAN DYKE R.A., WOOD C.L.
In Vitro Studies on Irreversible Binding of Halothane Metabolites to Microsomes.
Drug Metab. Dispos., 3, 51-57 (1975)

VAN DYKE R.A.
Metabolism of Halothane.
Anesthesiology, 43, 386-387 (1975)

WASKELL L.
Lack of Mutagenicity of two Possible Metabolites of Halothane.
Anesthesiology, 50, 9-12 (1979)

WHITCHER C.E., COHEN E.N., TRUDELL J.R.
Chronic Exposure to Anesthetic Gases in the Operating Room.
Anesthesiology, 35, 348-353 (1971)

WIDGER L.A., GANDOLFI A.J., VAN DYKE R.A.
Hypoxia and Halothane Metabolism in Vivo:
Release of Inorganic Fluorid and Halothane Metabolite
Binding to Cellular Constituents.
Anesthesiology, 44, 197-201 (1976)

Herrn Professor Dr. med. D. Henschler danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas, die an seinem Institut gebotene Arbeitsmöglichkeit sowie die freundliche Unterstützung bei Ausführung und Durchsicht der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. E. Dallmeier, der mir bei jedem aufgetretenen Problem bei der Durchführung der Arbeit hilfreich zur Seite stand.

Frl. M. Dertinger, Frl. J. Ahamer und Frl. H. Bleifuß möchte ich für ihre freundliche und hilfsbereite Unterstützung bei der Durchführung der schwierigen Versuche aufrichtig danken.

LEBENSLAUF

Am 27. Oktober 1951 wurde ich als zweites Kind des Bauunternehmers Wilhelm Rösch und seiner Ehefrau Liesbeth, geb. Fiedler, in Schweinfurt geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Karlstadt, trat ich 1963 in das Mozartgymnasium in Würzburg ein. 1968 wechselte ich auf das Röntgengymnasium über, wo ich im Juni 1972 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1972/73 studierte ich an der Universität Würzburg ein Semester lang Chemie. Im Sommersemester 1973 begann ich an der gleichen Universität mein Medizinstudium und bestand im März 1975 die Ärztliche Vorprüfung. Im März 1976 folgte der 1. Teil und im August 1978 der 2. Teil der Ärztlichen Prüfung. Im Oktober 1979 beendete ich mein Studium, nach Bestehen des 3. Teiles der Ärztlichen Prüfung.

Von Dezember 1979 bis Juni 1980 arbeitete ich im Kreiskrankenhaus Nittenau als Assistenzärztin auf der internen Abteilung. Seit 1. Juli 1980 bin ich nun im Kreiskrankenhaus Burglengenfeld auf der internen Abteilung tätig.

Ingrid Rösch

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80